รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

เรื่อง

(ภาษาไทย) **ฤทธิ์ในการลดระดับน้ำตาลในเลือดและภาวะแทรกซ้อนของสารสกัดสาหร่ายเตาในหนูขาวที่มีภาวะเบาหวานชนิดที่ 2**

(ภาษาอังกฤษ) **Antihyperglycemic effects and its related complications of *Spirogyra neglecta* extract in Type 2 Diabetic rats**

หัวหน้าโครงการวิจัย

ดร. นริศรา ไล้เลิศ

ภาควิชาสรีรวิทยา คณะแพทยศาสตร์

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ 50200

โทรศัพท์ : (053) 945363 ต่อ 119

โทรสาร : (053) 945365

E-mail : nlailerd@mail.med.cmu,ac,th

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

พ.ศ. 2554

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยเรื่อง ฤทธิ์ในการลดระดับน้ำตาลในเลือดและภาวะแทรกซ้อนของสารสกัดสาหร่ายเตาในหนูขาวที่มีภาวะเบาหวานชนิดที่ 2 นี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ โครงการสนับสนุนการวิจัยเพื่อการเพิ่มมูลค่าสินค้าการเกษตรเพื่อการส่งออกและลดการนำเข้า ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2553 ตั้งแต่ เดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2553 ถึง เดือนสิงหาคม พ.ศ. 2554 ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณอย่างสูงต่อผู้อำนวยการ คณะกรรมการ และเจ้าหน้าที่ของคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติที่ได้ให้การสนับสนุนทุนอุดหนุนวิจัยต่อโครงการนี้ทั้งหมด และได้ให้ข้อคิดเห็น คำแนะนำต่าง ๆ และความร่วมมือ จนการวิจัยครั้งนี้ประสบความสำเร็จตามเป้าหมายที่ตั้งไว้เป็นอย่างดี

นอกจากนี้ ข้าพเจ้าขอขอบคุณศูนย์เครื่องมือกลาง คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ และคณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการใช้เครื่องมือวิเคราะห์ในบางส่วนของโครงการวิจัยนี้

ดร. นริศรา ไล้เลิศ
หัวหน้าโครงการ

บทคัดย่อ

ชื่อโครงการ

(ภาษาไทย) ฤทธิ์ในการลดระดับน้ำตาลในเลือดและภาวะแทรกซ้อนของสารสกัดสาหร่ายเตาในหนูขาวที่มีภาวะเบาหวานชนิดที่ 2

(ภาษาอังกฤษ) Antihyperglycemic effects and its related complications of *Spirogyra neglecta* extract in Type 2 Diabetic rats

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัย ประจำปี พ.ศ. 2553 จำนวนเงิน 1,858,000.00 บาท
ระยะเวลาทำการวิจัย 1 ปี ตั้งแต่ พฤษภาคม พ.ศ. 2553 ถึง เดือนสิงหาคม พ.ศ. 2554

ชื่อผู้วิจัย

1. ดร. นริศรา ไล้เลิศ
ภาควิชาสรีรวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ อ.เมือง จ.เชียงใหม่ 50200
โทรศัพท์ 0 5394 5362-4 โทรสาร 053-945-365

2. ผศ.ดร. อัญชลี พงศ์ชัยเดชา
ภาควิชาสรีรวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ อ.เมือง จ.เชียงใหม่ 50200
โทรศัพท์ 0 5394 5362-4 โทรสาร 053-945-365

3. ดร. อนุสรณ์ ลังกาพินธ์
ภาควิชาสรีรวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ อ.เมือง จ.เชียงใหม่ 50200
โทรศัพท์ 0 5394 5362-4 โทรสาร 053-945-365

4. ดร. ชุติมา ศรีมะเริง
ภาควิชาสรีรวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ อ.เมือง จ.เชียงใหม่ 50200
โทรศัพท์ 0 5394 5362-4 โทรสาร 053-945-365

5. ดร. ดวงพร อมรเลิศพิศาล
คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้
โทรศัพท์ 0-5387-3470-2 ต่อ 213 โทรสาร 0-5387-3470-2 ต่อ 130

6. ผศ.ดร. รวิวรรณ วงศ์ภูมิชัย
ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
โทรศัพท์ 053-945325 ต่อ 100 โทรสาร 053-894031

7. รศ.ดร.เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน
คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้
โทรศัพท์ 0-5387-3470-2 ต่อ 111 โทรสาร 0-5387-3470-2 ต่อ 130

ภาษาไทย

การศึกษานี้เกี่ยวกับฤทธิ์ในการลดระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือดและภาวะแทรกซ้อนของสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่ายเตา (*Spirogyra neglecta*) ในหนูขาวที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดโรคเบาหวานชนิดที่ 2 ด้วยอาหารไขมันสูงและสารสเตรปโตโซโตซิน การให้สารสกัดของสาหร่ายเตาในขนาด 1000 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวันในหนูที่มีภาวะเบาหวานเป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่าสามารถลดระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือดและพื้นที่ใต้กราฟของกลูโคสจากการทดสอบความทนทานต่อกลูโคสทางปาก ลดระดับไขมันอิสระและไตรกลีเซอร์ไรด์ในเลือดของหนูเบาหวานอย่างมีนัยสำคัญ โดยยังพบว่ามีการเพิ่มการปรากฏของโปรตีนขนส่งกลูโคสชนิดที่ 4 ร่วมด้วย ซึ่งบ่งชี้ว่ามีการเพิ่มความไวในการตอบสนองต่ออินซูลิน นอกจากนี้ยังพบว่าการให้สารสกัดสาหร่ายเตามีผลช่วยเพิ่มการคลายตัวของหลอดเลือดผ่านทาง endothelial cell ได้ดีขึ้นและลดการเกิดภาวะเครียดออกซิเดชั่นในกล้ามเนื้อหัวใจในระดับโมเลกุลได้ซึ่งแสดงโดยการลดการกระตุ้น p-PKCα และ NF-ΚB สำหรับในไตพบว่าสารสกัดสาหร่ายเตามีผลเพิ่มการทำงานของโปรตีนขนส่งประจุลบที่บริเวณผนังเซลล์ของท่อไตของหนูเบาหวานอย่างมีนัยสำคัญ โดยมีกลไกการออกฤทธิ์ผ่านทางระบบควบคุมสารต้านอนุมูลอิสระทั้งในการลดภาวะเครียดออกซิเดชั่น โดยผ่านทางกลไกปฏิกิริยา lipid peroxidation, การแสดงออกของยีนสำหรับเอนไซม์ glutathione peroxidase, และลดการทำงานของโปรตีน PKCα และเพิ่มโปรตีนตัวกลาง PKCζ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของ insulin จากผลการศึกษาทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นศักยภาพของสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่ายเตาในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์อาหารสุขภาพ เพื่อช่วยควบคุมระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือดและป้องกันภาวะแทรกซ้อนระยะเริ่มแรกทางหัวใจ หลอดเลือดและไตที่เกิดจากเบาหวานชนิดที่ 2

คำสำคัญ: สาหร่ายเตา, โรคเบาหวาน, ภาวะน้ำตาลในเลือดสูง, ภาวะเครียดออกซิเดชั่น

ภาษาอังกฤษ

Antidiabetic effect of the aqueous extract of *Spirogyra neglecta* (SN) was evaluated in high fat diet and streptozotocin-induced type2 diabetic rats. Feeding with SN extract (1000 mg/kg BW) for 12 weeks to diabetic rats significantly lowered the plasma glucose levels as well as the area under the curve for glucose from the oral glucose tolerance test. Moreover, the plasma FFA and triglyceride levels were corrected towards the control rats. Interestingly, the increased GLUT4 protein expression in soleus muscle was found in SN-treated diabetic rats indicating enhanced of insulin sensitivity and finally, increased glucose uptake. The aqueous extract of SN supplement significantly increased endothelial-dependent relaxation of vascular smooth muscle and also reduced molecular oxidative stress in cardiac muscle cells via p-PKCα and NF-κB pathway. Furthermore, the aqueous extract of SN supplement significantly enhanced the estrone sulfate transport mediated by rOat3, which act as the indicator of early stage of nephropathy, in diabetic rats where correlated with decreased renal super oxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase mRNA expression. Consistently, the decreased PKCα function and the increased PKCζ protein expression, the modulator of Oat3, were found indicating changing of the intracellular insulin signaling mechanism.

Thus, these results indicated the potentiality of the aqueous extract of *Spirogyra neglecta* for the correction of type 2 diabetes mellitus and its related complications like oxidative stress, hyperlipidemia, early diabetic nephropathy and cardiovascular diseases. This extract may be good candidate for promising neutraceutical treatment for the management of diabetes.

Keywords: *Spirogyra neglecta*, diabetes mellitus, hyperglycemia, oxidative stress

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	i
บทคัดย่อภาษาไทย	iii
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	iv
สารบัญ	v
สารบัญตาราง	viii
สารบัญรูป	ix
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อที่ใช้ในการวิจัย	xi
บทที่ 1 บทนำ	1
ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย	1
วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย	4
ขอบเขตของโครงการวิจัย	4
ทฤษฎี สมมติฐาน และหรือกรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย	5
การทบทวนวรรณกรรม/สารสนเทศ (information) ที่เกี่ยวข้อง	5
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	11
บทที่ 2 วิธีดำเนินการวิจัย (Materials and Methods)	14
<u>การวิจัยทางพฤกษเคมี</u>	14
- เก็บรวบรวมสาหร่าย	
- พิสูจน์เอกลักษณ์ของสาหร่าย	
- เตรียมสารสกัดน้ำของสาหร่ายเตา	
- การตรวจคัดกรองทางพฤกษเคมี (phytochemical screening)	
- ทดสอบฤทธิ์ขจัดอนุมูลอิสระ (Scavenging activity of $ABTS^{+\bullet}$ radical cation)	
<u>การวิจัยการทดสอบฤทธิ์ชีวภาพในสัตว์ทดลอง</u>	16
- กิจกรรมที่ 1 การเตรียมสัตว์ทดลอง	
- กิจกรรมที่ 2 การศึกษาฤทธิ์ในการลดระดับสารเคมี (glucose, insulin และไขมัน) ในเลือด และต่อ insulin signaling ในกล้ามเนื้อลายของสารสกัดสาหร่ายเตาในหนูขาวที่มีภาวะเบาหวานชนิดที่ 2	

สารบัญ (ต่อ)

เรื่อง	หน้า
- กิจกรรมที่ 3 การศึกษาผลของสารสกัดสาหร่ายเตาต่อกลไกการทำงานของหลอดเลือดและการต้านการเกิดการอุดตันของหลอดเลือดในหนูขาวที่มีภาวะเบาหวานชนิดที่ 2	
- กิจกรรมที่ 4 การศึกษาผลฤทธิ์ในการป้องกันและต้านสารอนุมูลอิสระของสารสกัดสาหร่ายเตาต่อการขนส่งสารที่ท่อไตในหนูขาวที่มีภาวะเบาหวานชนิดที่ 2	
วิธีทางสถิติที่ใช้วิเคราะห์	22
บทที่ 3 ผลการทดลอง อภิปรายและวิจารณ์ผล	23
การวิจัยทางพฤกษเคมี	23
- ปริมาณโพลีฟีนอลของสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย	
- ปริมาณ% yield, carbohydrate และ sulfate content จากการสกัดลำดับส่วนของสาหร่ายเตา	
- ปริมาณโพลีฟีนอลของส่วนสกัดแบบลำดับส่วน	
- ฤทธิ์ขจัดอนุมูล $ABTS^{+\bullet}$	
- คำแนะนำจากผู้ทรงคุณวุฒิ	
การทดสอบฤทธิ์ชีวภาพในสัตว์ทดลอง	29
กิจกรรมที่ 2 :- การศึกษาผลของสาหร่ายเตาในการลดระดับสารเคมี (กลูโคส ฮอร์โมนอินซูลิน และไขมัน) ในเลือด และการส่งสัญญาณอินซูลินในกล้ามเนื้อลายของสาหร่ายเตาในหนูขาวที่มีภาวะเบาหวานชนิดที่ 2	29
- ผลของสารสกัดสาหร่ายเตาต่อน้ำหนักตัวและไขมันในช่องท้อง	
- ผลของสารสกัดสาหร่ายเตาในการลดระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือด	
- ผลของสารสกัดสาหร่ายเตาในการลดระดับไขมันในเลือด	
- ผลของสารสกัดสาหร่ายเตาต่อความทนทานต่อกลูโคส	
- ผลของสารสกัดสาหร่ายเตาต่อการสะสมของไขมันในเนื้อเยื่อตับ	
- ผลของสารสกัดสาหร่ายเตาต่อการส่งสัญญาณอินซูลินในกล้ามเนื้อลาย	
- ผลของสารสกัดสาหร่ายเตาต่อในการต้านอนุมูลอิสระในเลือด	
กิจกรรมที่ 3 :- การศึกษาผลของสาหร่ายเตาต่อกลไกการทำงานของหลอดเลือดและการต้านการเกิดการอุดตันของหลอดเลือดในหนูขาวเบาหวานชนิดที่ 2 ที่มีภาวะแทรกซ้อนของหัวใจและหลอดเลือดในระยะแรก	44

สารบัญ (ต่อ)

เรื่อง	**หน้า**
- ผลของสาหร่ายเตาต่อการทำงานของ endothelial cell ของหลอดเลือด	
- ผลของสาหร่ายเตาต่อการป้องการเกิดภาวะ oxidative stress ในกล้ามเนื้อหัวใจ	
กิจกรรมที่ 4 :- การศึกษาผลของสาหร่ายเตาในการป้องกันและต้านสารอนุมูลอิสระของสาหร่ายเตาต่อการขนส่งสารที่ท่อไตในหนูขาวเบาหวานชนิดที่ 2 ที่มีภาวะแทรกซ้อนทางไตในระยะแรก	51
- ผลของสาหร่ายเตาต่อสัณฐานจุลทรรศน์วิทยาของเนื้อเยื่อไต	
- ผลของสาหร่ายเตาต่อในการป้องกันและต้านสารอนุมูลอิสระในไต	
- ผลของสาหร่ายเตาต่อการวัดการทำงานและการแสดงออกของยีนสำหรับโปรตีนขนส่งสารอินทรีย์ประจุลบที่อยู่บนผนังเซลล์ของท่อไต	
- ผลของสาหร่ายเตาต่อการวัดการทำงานของโปรตีนขนส่งสารอินทรีย์ประจุลบที่อยู่บนผนังเซลล์ของท่อไตในสภาวะที่ถูกกระตุ้นด้วย Insulin ผ่านทางการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของ insulin ของท่อไต	
- ผลของสาหร่ายเตาต่อการแสดงออกในระดับยีนสำหรับเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับภาวะ Oxidative stress ในไต	
- ผลของสาหร่ายเตาต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณการแสดงออกของโปรตีนตัวกลางอื่นๆ ที่เกี่ยวข้องกับการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของ insulin และส่งผลต่อการทำงานของโปรตีนขนส่งสารอินทรีย์ประจุลบที่อยู่บนผนังเซลล์ของท่อไต	
<u>กิจกรรมทางวิชาการ</u>	61
- การเผยแพร่ความรู้สู่ชุมชน	
- การเสนอผลงานวิชาการ	
- การสร้างนักวิจัยรุ่นใหม่	
บทที่ 4 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	63
บรรณานุกรม	65
ภาคผนวก	71
ประวัติคณะผู้วิจัย	78

สารบัญตาราง

ตาราง	หน้า
ตารางที่ 1 ปริมาณโพลีฟีนอลของสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่ายเตา	23
ตารางที่ 2 ปริมาณ % yield, carbohydrate และ sulfate content จากการสกัดลำดับส่วนของสาหร่ายเตา	26
ตารางที่ 3 ปริมาณโพลีฟีนอลของส่วนสกัดแบบลำดับส่วน	27
ตารางที่ 4 ฤทธิ์ขจัดอนุมูล $ABTS^{+\bullet}$	28

สารบัญรูป

รูป	หน้า
รูปที่ 1 แนวคิดกระบวนการพัฒนาศักยภาพของสาหร่ายเตา	13
รูปที่ 2 แผนภูมิแสดงวิธีการเตรียมสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่ายเตา	14
รูปที่ 3 แสดงวิธีการสกัดลำดับส่วนของสาหร่ายเตา	16
รูปที่ 4 ภาพแสดงสาหร่ายเตา (Spirogyra neglecta)	23
รูปที่ 5 ผลของสารสกัดสาหร่ายเตาต่อน้ำหนักตัว	30
รูปที่ 6 ผลของสารสกัดสาหร่ายเตาต่อ visceral fat	30
รูปที่ 7 ผลของสารสกัดสาหร่ายเตาต่อค่า relative fat mass	31
รูปที่ 8 ผลของสารสกัดสาหร่ายเตาต่อระดับglucoseในเลือด	32
รูปที่ 9 ผลของสารสกัดสาหร่ายเตาต่อ insulin ในเลือด	33
รูปที่ 10 ผลของสารสกัดสาหร่ายเตาต่อค่า HOMA index	33
รูปที่ 11 ผลของสารสกัดสาหร่ายเตาต่อระดับ Triglyceride ในเลือด	34
รูปที่ 12 ผลของสารสกัดสาหร่ายเตาต่อระดับ Cholesterol ในเลือด	35
รูปที่ 13 ผลของสารสกัดสาหร่ายเตาต่อระดับ Free fatty acid ในเลือด	35
รูปที่ 14 ผลของสารสกัดสาหร่ายเตาต่อระดับ HDL-C ในเลือด	36
รูปที่ 15 ผลของสารสกัดสาหร่ายเตาต่อระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือดจากการทดสอบความทนทานต่อกลูโคส	38
รูปที่ 16 ผลของสารสกัดสาหร่ายเตาต่อพื้นที่ใต้กราฟของน้ำตาลกลูโคส (area under the curve) จากการทดสอบความทนทานต่อกลูโคส	39
รูปที่ 17 ผลของสารสกัดสาหร่ายเตาต่อการสะสมของ Hepatic triglyceride content	40
รูปที่ 18 ผลของสารสกัดสาหร่ายเตาต่อการแสดงออกของ GLUT4 protein ในกล้ามเนื้อ soleus	41
รูปที่ 19 ผลของสารสกัดสาหร่ายเตาต่อการแสดงออกของ IRS-1 protein ในกล้ามเนื้อ soleus	41
รูปที่ 20 ผลของสารสกัดสาหร่ายเตาต่อการคลายตัวของหลอดเลือด	45
รูปที่ 21 ผลของสารสกัดสาหร่ายเตาต่อการปรากฏของ PKC α ในกล้ามเนื้อหัวใจ	48
รูปที่ 22 ผลของสารสกัดสาหร่ายเตาต่อการปรากฏของ p-PKC α ในกล้ามเนื้อหัวใจ	49
รูปที่ 23 ผลของสารสกัดสาหร่ายเตาต่อการปรากฏของ NF- κ B ในกล้ามเนื้อหัวใจ	50
รูปที่ 24 ภาพแสดงสัณฐานจุลทรรศน์วิทยาของเนื้อเยื่อไต	52
รูปที่ 25 ผลของสารสกัดสาหร่ายเตาต่อระดับ MDA ในเนื้อเยื่อไต	53

สารบัญรูป

รูป	หน้า
รูปที่ 26 ผลของสารสกัดสาหร่ายเตาต่อการทำงานของโปรตีนขนส่งสารอินทรีย์ประจุลบในไต	56
รูปที่ 27 ผลของสารสกัดสาหร่ายเตาต่อการการทำงานของโปรตีนขนส่งสารอินทรีย์ประจุลบชนิดที่ 1 และ 3 ในสภาวะที่ถูกกระตุ้นด้วย Insulin	57
รูปที่ 28 ผลของสารสกัดสาหร่ายเตาต่อการแสดงออกของยีนสำหรับเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับภาวะ Oxidative stress ในไต	58
รูปที่ 29 ผลของสารสกัดสาหร่ายเตาต่อการแสดงออกของโปรตีน PKC ξ ในส่วนต่าง ๆ ของเซลล์ในไต	58
รูปที่ 30 ผลของสารสกัดสาหร่ายเตาต่อการแสดงออกของโปรตีน p-PKC α ในไต	60
รูปที่ 31 ภาพการจัดฝึกอบรมเผยแพร่ความรู้	61

สัญลักษณ์และคำย่อที่ใช้ในการวิจัย

T2DM	Type 2 diabetes mellitus
IRS-1	Insulin receptor substrate-1
GLUT4	Glucose transporter 4
TG	Triglyceride
DNA	Deoxyriboneucleic acid
mg/dl	Milligrams per deciliter
g	Milliliter
ml	Gram
mmol/l	Millimoles per liter
uU/ml	Microunit per milliliter
GAE	Gallic acid equivalents
ABTS	2, 2'-azino-bis 3-ethylbenzthiazoline -6-sulfonic acid
H&E	Hematoxyline and Eosin
PI3-K	Phosphatidylinositol 3-kinase
PKC	Protein kinase C
PKC ζ	Protein kinase C zeta
p- PKC ζ	Phosphorylated protein kinase C zeta
IRS-1	Insulin receptor substrate-1
NF-kB	NF-(kappa)B
TNF-α	Tumor necrosis factor-alpha

HOMA index	Homeostasis model assessment of insulin resistance
qRT-PCR	Quantitative reverse transcriptase polymerase chain reaction
MDA	Malondialdehyde
EGF	Epidermal growth factor
PAH	Para-aminohippurate
GPx	Glutathione peroxidase
SOD	Superoxide dismutase
NOX	NAD(P)H oxidase
p-PKCα	Phosphorylated protein kinase C alpha
kcal/g	Kilocaloric per gram
wk	Week
mg/kgBW	Milligram per kilogram body weight
NaF	Sodium fluoride
EDTA	Ethylene dinitro tetra acetic acid
AUC	Area under the curve
hr	Hour
H_2O_2	Hydrogen peroxide
mEq/L	Milliequivalents of solute per litre of solvent
SE	Standard Error

ANOVA	Analysis of variance
ng/ml	Nanogram per liter
$TAUC_g$	Total area under the curve for glucose
$IAUC_g$	Incremental area under the curve for glucose
min	Minute

บทที่ 1
บทนำ

ความสำคัญ และที่มาของปัญหาที่ทำวิจัย

โรคเบาหวานเป็นโรคไม่ติดต่อที่นับวันก็ยิ่งทวีความสำคัญต่อสุขภาพของประชากรโลก จากข้อมูลขององค์การอนามัยโลกพบว่า ความชุกของโรคเบาหวานเพิ่มขึ้นอย่างมากไม่เฉพาะในกลุ่มประเทศที่พัฒนาแล้วเท่านั้น ในประเทศที่กำลังพัฒนาก็มีความเสี่ยงต่อการเป็นโรคเบาหวานที่สูงขึ้น จากข้อมูลจากสำนักนโยบายและยุทธศาสตร์ กระทรวงสาธารณสุขพบมีผู้เสียชีวิตจากโรคเบาหวานใน ปี พ.ศ. 2552 ประมาณ 7,019 คน หรือ ประมาณวันละ 19 คน และในรอบ 10 ปีที่ผ่านมา (พ.ศ. 2542 – 2552) พบคนไทยนอนรักษาตัวที่โรงพยาบาลสังกัดกระทรวงสาธารณสุขด้วยโรคเบาหวานเพิ่มขึ้น 4.02 เท่า และจากการสำรวจสถานะสุขภาพอนามัยของคนไทย (อายุ 15 ปีขึ้นไป) ครั้งที่ 3 ปี พ.ศ.2546 – 2547 เปรียบเทียบกับ ครั้งที่ 2 พ.ศ. 2539-2540 พบความชุกเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 4.4 เป็นร้อยละ 6.9 สำหรับครั้งล่าสุด (ครั้งที่ 4 พ.ศ.2551-2552) พบอัตราความชุกโรคเบาหวานเท่าเดิม คือ ร้อยละ 6.9

โรคเบาหวานชนิดที่พบได้บ่อยและเป็นปัญหาที่สำคัญของประเทศไทย คือโรคเบาหวานชนิดที่ 2 (เดิมเรียก โรคเบาหวานชนิดไม่พึ่งอินซูลินหรือ Non insulin dependent diabetes mellitus) ซึ่งมีแนวโน้มจะพบสูงขึ้นในช่วงทศวรรษที่ผ่านมา การสำรวจในประเทศไทยพบว่ามีเพียงร้อยละ 37.4 ของผู้ป่วยเบาหวานเท่านั้นที่ทราบว่าตนเองเป็นโรคนี้และได้รับการรักษาอยู่ สำหรับวิธีการรักษาโรคเบาหวานโดยทั่วไปทางการแพทย์แผนปัจจุบันใช้อยู่ 3 วิธี คือ การควบคุมอาหาร การออกกำลังกายและการใช้ยารักษา โดยการใช้ยามีแบบแผนเดียวกันคือต้องขึ้นอยู่กับชนิดและระดับน้ำตาลในเลือดและควรจะต้องปฏิบัติอย่างเคร่งครัดในการใช้ยาตามคำแนะนำของแพทย์

โรคเบาหวานเป็นโรคเรื้อรังที่ต้องรักษาไปตลอดชีวิต การรักษาด้วยการใช้ยาแผนปัจจุบันต้องสิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายเป็นจำนวนมากเพราะค่ายารักษาโรคเบาหวานมีราคาค่อนข้างแพง เนื่องจากต้องสั่งซื้อจากต่างประเทศเป็นส่วนใหญ่ ดังนั้นในปัจจุบันจึงยังมีความสนใจเพิ่มขึ้นในการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับสมุนไพรที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่สามารถลดระดับน้ำตาลในเลือดได้ จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่า การเพิ่มสูงขึ้นของระดับน้ำตาลในเลือดในโรคเบาหวานจะก่อให้เกิด autooxidation ของน้ำตาลกลูโคส, glycation ของโปรตีน และการเพิ่มขึ้นของ polyol metabolism ซึ่งการเปลี่ยนแปลงเหล่านี้จะมีผลกระตุ้นการเกิดสารอนุมูลอิสระและเพิ่ม oxidative chemical modification ของไขมัน, DNA และโปรตีนในเนื้อเยื่อต่าง ๆ นอกจากนี้การเพิ่มขึ้นของสารอนุมูลอิสระซึ่งเกิดร่วมกับมีการลดลงของกลไกการต้านสารอนุมูลอิสระ จะก่อให้เกิดการทำลายการทำงานของเอ็นไซม์และเซลล์ เพิ่ม lipid peroxidation และการเกิดภาวะดื้อต่ออินซูลิน ซึ่งทำให้เกิดภาวะแทรกซ้อนของโรคเบาหวานตามมา

หนึ่งในภาวะแทรกซ้อนที่สำคัญและเป็นอันตรายของโรคเบาหวานคือภาวะความผิดปกติของหลอดเลือด (diabetic angiopathy) ซึ่งรวมถึงภาวะความดันโลหิตสูง ความผิดปกติของการมองเห็น และการทำงานของไตที่ผิดปกติ ที่ผ่านมามีการศึกษาอย่างต่อเนื่อง และมากมายเกี่ยวกับโรคเบาหวานกับความผิดปกติของการทำงานของหลอดเลือด ซึ่งมีรายงานว่า สาเหตุที่สำคัญของการเกิดความผิดปกติของการทำงานของหลอดเลือด คือ ความผิดปกติของการทำงานของ endothelial cell ของหลอดเลือดซึ่งเป็นเซลล์ที่เรียงตัวกันเพียงชั้นเดียวในชั้นในสุดของหลอดเลือด มีหน้าที่สำคัญในการควบคุมความตึงตัวของหลอดเลือด ซึ่งมีผลต่อการควบคุมการไหลเวียนเลือดเข้าสู่อวัยวะต่างๆ ดังนั้น จึงมีการศึกษาอย่างมากมายเกี่ยวกับความสำคัญและบทบาทของ endothelial cell ต่อการเกิดภาวะแทรกซ้อนของหัวใจและหลอดเลือดในโรคเบาหวานโดยที่ endothelial cell เป็นจุดแรกที่สามารถรับรู้การเปลี่ยนแปลงของปัจจัยต่างๆที่กระทบต่อการไหลเวียนในหลอดเลือดที่เกิดขึ้นเฉพาะที่หรือทั้งในระบบไหลเวียน หลังจากนั้น endothelial cell จะมีการแปลผลการรับรู้และตอบสนองโดยการเปลี่ยนแปลงการไหลเวียนของเลือดไปสู่อวัยวะนั้น โดยการเปลี่ยนแปลงระดับความตึงตัวของหลอดเลือด ผ่านทางการสร้างสารที่มีผลต่อการหดตัว หรือคลายตัวของหลอดเลือด ในหลอดเลือดปกติ endothelial cell จะมีการหลั่งสารที่ออกฤทธิ์ที่กล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดซึ่งมีผลทำให้เกิดการคลายตัวของหลอดเลือด จากการศึกษาในโรคเบาหวานพบว่า การคลายตัวของหลอดเลือดที่เกิดจาก endothelial cell มีความผิดปกติในหลาย ๆ อวัยวะและอาจมีผลทำให้มีการเพิ่มความตึงตัวของหลอดเลือดและมีผลลดการไหลเวียนเลือดไปยังอวัยวะนั้น ๆ ซึ่งทำให้เกิดภาวะการขาดเลือดของกล้ามเนื้อบริเวณนั้นได้ ความผิดปกติของการทำงานของ endothelial cell ของหลอดเลือดอาจจะเกิดจากกลไกที่เกี่ยวข้องกับการเพิ่มขึ้นของระดับอนุมูลอิสระที่เกิดจากภาวะน้ำตาลในเลือดสูงซึ่งอาจมีผลทำให้ endothelial cell ถูกทำลาย หรืออาจจะเกิดจากความผิดปกติของการควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด และการออกฤทธิ์รวมถึงการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของอินซูลิน (insulin signaling) ของหลอดเลือดโดยมีผลทำให้ มีการสร้าง eNOS และ nitric oxide ลดลงในหลอดเลือด ซึ่งอาจจะมีผลทำให้มีการเพิ่มปัจจัยส่งเสริมให้เกิดการอุดตันของหลอดเลือดและทำให้เกิดภาวะโรคหัวใจและหลอดเลือดในโรคเบาหวานตามมา

นอกจากปัญหาภาวะความผิดปกติของหลอดเลือดจะเป็นภาวะแทรกซ้อนที่พบบ่อยในผู้ป่วยโรคเบาหวานแล้ว จากรายงานการวิจัยที่ผ่านมาพบว่า ภาวะแทรกซ้อนทางไต (diabetes nephropathy) ก็เป็นอีกภาวะหนึ่งที่พบบ่อบในโรคเบาหวานชนิดที่ 2 ซึ่งส่งผลโดยตรงต่อการทำงานที่ลดลงของไตโดยในระยะแรก จะมีการกรองที่โกลเมอรูรัส (glomerular filtration) เพิ่มมากขึ้นและเริ่มพบโปรตีนในปัสสาวะ ความสามารถในการขับถ่ายสารต่างๆ ออกจากร่างกายโดยการทำงานหลักที่ท่อไตส่วนต้น (proximal tubule) ลดลง ซึ่งสารที่ถูกขับถ่ายเหล่านี้หมายรวมถึงสารอินทรีย์ประจุลบและบวก (organic anions and cations) ซึ่งอาจจะเป็นสารจากที่ร่างกายสร้างขึ้น (endogenous compounds), สารเมตาบอไลท์จากยาที่รับประทานเข้าไปหลายชนิด หรือแม้แต่

สารพิษและโลหะหนักต่างๆ (xenobiotics and heavy metals) ซึ่งตัวอย่างของสารต่างๆ ดังกล่าว ได้แก่ ฮอร์โมน estrogen และสารเมตาบอไลท์, ยาต้านการอักเสบแบบไม่ใช่สเตียรอย (nonsteroidal antiflammatory drugs), ยาต้านมะเร็ง (anticancer), ยาขับปัสสาวะ (antidiuretic), ยาต้านไวรัส (antiviral) และ สารหรือโลหะหนักที่จับกับ glutathione หรือ glucuronide (Glutathione- or glucuronide-conjugates) ซึ่งสารต่างๆ เหล่านี้ จะถูกขับออกจากท่อไตโดยอาศัยโปรตีนขนส่งเฉพาะที่ที่มีอยู่มากที่ท่อไตส่วนต้นหรือที่เรียกว่า โปรตีนขนส่งสารอินทรีย์ประจุลบหรือบวก (organic anion transporters, OATs, or organic cation transporters, OCTs) ซึ่งในส่วนของท่อไตส่วนต้น จะมีระดับของโปรตีนขนส่งสารอินทรีย์ประจุลบชนิดที่ 1 และ 3 (organic anion transporters 1 and 3) และโปรตีนขนส่งสารอินทรีย์ประจุบวกชนิดที่ 2 (organic cation transporters 2) มากที่สุดในส่วนของผนังด้านที่ติดกับหลอดเลือด (basolateral membrane) โปรตีนกลุ่มนี้ยังเป็นโปรตีนที่สำคัญที่ควบคุมภาวะทางเภสัชจลนศาสตร์ (pharmacokinetics) ในกรณีที่ผู้ป่วยรับประทานยาหลายตัวพร้อมกัน ดังนั้นจึงจัดได้ว่าเป็นโปรตีนที่มีความสำคัญอย่างยิ่งในการขับถ่ายสารต่างๆในท่อไต ซึ่งหากมีความผิดปกติของโปรตีนนี้ ไม่ว่าจะเนื่องจากการมีจำนวนที่ลดลง หรือจากการทำงานที่ลดลง จะส่งผลให้เกิดเปลี่ยนแปลงอัตราการขับสารต่างๆ ทางท่อไต ทำให้ไม่สามารถขับถ่ายสารอินทรีย์ต่างๆ ออกจากร่างกายได้ เกิดการสะสมสารเหล่านั้นในเนื้อไตและอาจเกิดภาวะไตเป็นพิษ (nephrotoxicity) ได้ในที่สุด ปัจจุบันมีรายงานพบว่า การลดลงของโปรตีนขนส่งสารอินทรีย์ประจุลบที่ผนังท่อไตอาจเกิดจากการกระตุ้นโปรตีนตัวกลางตัวหนึ่งเรียกว่า โปรตีนไคเนส ชนิด ซี (Protein kinase C; PKC) ซึ่งหาก PKC ทำงานมากขึ้น จะส่งผลให้จำนวนโปรตีนขนส่งสารอินทรีย์ประจุลบมีปริมาณการแสดงออกที่ผนังเซลล์ลดลง และทำให้การทำงานขนส่งสารอื่นๆ ในท่อไต ลดลงด้วยเช่นกัน นอกจากนี้ รายงานวิจัยบางส่วนยังพบว่า ในกรณีที่เกิดภาวะ oxidative stress ในสัตว์ที่เป็นเบาหวานชนิดที่ 2 นี้ สารอนุมูลอิสระ จะกระตุ้นการทำงานของ PKC โดยตรง ซึ่งจากข้อมูลดังกล่าว น่าจะส่งผลโดยตรงต่อการลดลงของโปรตีนขนส่งสารอินทรีย์ประจุลบหรือบวก และอาจทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงภาวะทางเภสัชจลนศาสตร์ และส่งผลกระทบต่อการขับถ่ายสารอินทรีย์อื่นๆในร่างกาย และอาจเกิดภาวะไตเป็นพิษได้ในที่สุด

การนำใช้สาหร่ายน้ำจืดขนาดใหญ่ เช่น **สาหร่ายเตา หรือ *(Spirogyra neglecta)*** ซึ่งมีฤทธิ์ในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ได้เช่นเดียวกับสมุนไพรพื้นบ้านอีกหลายชนิด จึงน่าจะเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่ใช้ลดปัจจัยเสี่ยงของการเกิดภาวะแทรกซ้อนของโรคหัวใจและหลอดเลือด โดยอาจมีผลทำให้การทำงานของ endothelial cell ดีขึ้น ทำให้หลอดเลือดมีการ คลายตัวที่ดีขึ้นและอาจมีผลแก้ไขการส่งสัญญาณภายในของอินซูลินของหลอดเลือด ทำให้การเกิด ภาวะการอุดตันของหลอดเลือดลดลงรวมถึงภาวะแทรกซ้อนทางไต ซึ่งอาจจะไปยับยั้งการทำงานของโปรตีนที่เกี่ยวข้องโดยตรง (เช่น PKC) หรือ ทางอ้อมโดยการลดจำนวนสารอนุมูลอิสระ (antioxidant effect) ได้

ดังนั้นแนวความคิดที่จะให้ผู้ป่วยโรคเบาหวานรับประทานอาหาร หรือ/และผลิตภัณฑ์เสริมอาหารที่มีฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระ น่าจะเป็นประโยชน์ต่อผู้ป่วยโรคเบาหวานในการลดและ/หรือป้องกันการเกิดภาวะแทรกซ้อนจากโรคเบาหวาน ทั้งยังช่วยให้ผู้ป่วยโรคเบาหวานมีคุณภาพชีวิตที่ดีขึ้นอีกด้วย

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาผลและกลไกการออกฤทธิ์ของสารสกัดสาหร่ายเตา (*Spirogyra neglecta)* ต่อการลดระดับน้ำตาลในเลือดของหนูขาวที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะเบาหวานชนิดที่ 2
2. เพื่อศึกษากลไกการออกฤทธิ์ของสารสกัดสาหร่ายเตาต่อการลดการภาวะแทรกซ้อนของหลอดเลือด (atherosclerosis) ในภาวะเบาหวานชนิดที่ 2
3. เพื่อศึกษากลไกการออกฤทธิ์ของสารสกัดสาหร่ายเตาต่อการเปลี่ยนแปลงการทำงานของโปรตีนขนส่งสารอินทรีย์ประจุลบที่ท่อไตในภาวะเบาหวานชนิดที่ 2

ขอบเขตของการวิจัย

ในการศึกษาวิจัยครั้งนี้จะทำการศึกษาผลของการให้สารสกัดด้วยน้ำของสาหร่ายเตา (*Spirogyra neglecta*) โดยวิธีการป้อนทางปากแก่หนูขาวที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะเบาหวานชนิดที่ 2 ด้วยอาหารไขมันสูงและฉีด streptozotozin (STZ) โดยจะศึกษากลไกเบื้องต้นของการลดระดับน้ำตาลกลูโคส (gluoose) ในเลือด รวมทั้งกลไกการลดภาวะแทรกซ้อนจากภาวะเบาหวานชนิดที่ 2 ในระยะเริ่มแรกที่ไต หลอดเลือดและหัวใจ โดยมุ่งเน้นศึกษาผลของการให้สารสกัดสาหร่ายเตาต่อการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของอินซูลิน (insulin signalling) ในกล้ามเนื้อลาย หัวใจและหลอดเลือด ได้แก่การปรากฏของ glucose transporter 4 (GLUT-4) , insulin receptor-substrate 1 (IRS-1), การกระตุ้น phosphatidylinositol-3-kinase (PI3K) , Akt-mediated glucose transport และ การกระตุ้น eNOS และ VCAM-1 ในหลอดเลือดแดงใหญ่ โดยใช้วิธี western blot analysis นอกจากนี้ทำการศึกษาผลของการให้สารสกัดสาหร่ายเตาต่อการลดอนุมูลอิสระโดยการวัด oxidative stress marker เช่น glutathione, catalase, superoxide dismutase โดยใช้น้ำยาสำเร็จรูป และศึกษาการปรากฏของ PKC และ NF-kappaB ซึ่งเป็น protein marker ของ ภาวะ oxidative stress ในเนื้อเยื่อของไตและหัวใจ นอกจากนี้เพื่อศึกษาผลลดภาวะแทรกซ้อนจากภาวะเบาหวานชนิดที่ 2 ในระยะเริ่มแรกที่ไต จึงทำการศึกษาผลของการให้สารสกัดสาหร่ายเตาต่อการปรากฏของโปรตีนขนส่งสารอินทรีย์ประจุลบและ/หรือ ประจุบวกที่ไตโดยใช้วิธี western blot analysis ร่วมกับศึกษาการทำงานของโปรตีนขนส่งสารอินทรีย์ประจุลบและ/หรือประจุบวกโดยวิธี radioactive uptake

ทฤษฎี สมมติฐาน และหรือกรอบแนวความคิดของการวิจัย

สารสกัดด้วยน้ำของสาหร่ายเตามีฤทธิ์ในการลดระดับน้ำตาลในเลือดของหนูขาวที่มีภาวะเบาหวาน และลดการเกิดสารอนุมูลอิสระจากภาวะน้ำตาลในเลือดสูง ทำให้ลดอัตราการเกิดภาวะแทรกซ้อนจากโรคเบาหวาน (ได้แก่ ความผิดปกติของการทำงานของ endothelial cell ของหลอดเลือด, การเกิดการอุดตันของหลอดเลือด, การเกิดภาวะแทรกซ้อนทางไต (Diabetes nephropathy) ซึ่งในที่สุดแล้วก็จะช่วยให้ผู้ป่วยโรคเบาหวานจะมีคุณภาพชีวิตที่ดีขึ้น

การทบทวนวรรณกรรม/สารสนเทศ (information) ที่เกี่ยวข้อง

<u>โรคเบาหวานและภาวะแทรกซ้อนจากโรคเบาหวาน</u>

โรคเบาหวานเป็นโรคเรื้อรังที่เกิดจากความผิดปกติของระบบต่อมไร้ท่อที่พบบ่อย และเป็นปัญหาที่สำคัญต่อภาวะสุขภาพของคนทั่วโลก สาเหตุของโรคเบาหวานเกิดจากพันธุกรรมและ/หรือมีความผิดปกติของการสร้างฮอร์โมนอินซูลิน (insulin) จากตับอ่อน หรือจากการที่ร่างกายมีการตอบสนองต่อ insulin ที่ลดลงหรือมีภาวะดื้อต่อ insulin โรคเบาหวานที่พบในปัจจุบัน อาจแบ่งเป็น 2 ชนิดใหญ่ๆ คือ โรคเบาหวานชนิดที่ 1 (เดิมเรียก โรคเบาหวานชนิดพึ่งอินซูลินหรือ insulin dependent diabetes mellitus) และโรคเบาหวานชนิดที่ 2 (เดิมเรียก โรคเบาหวานชนิดไม่พึ่งอินซูลินหรือ non insulin dependent diabetes mellitus) ซึ่งพบว่าภาวะอ้วนเป็นปัจจัยเสี่ยงโรคเบาหวานชนิดที่พบได้บ่อยและเป็นปัญหาที่สำคัญของประเทศไทย คือโรคเบาหวานชนิดที่ 2

ถึงแม้ว่าสาเหตุการเกิดโรคเบาหวานชนิดที่ 2 จะเกี่ยวข้องกับหลายปัจจัย จากรายงานการศึกษาในคลินิกและในสัตว์ทดลอง พบว่า สารอนุมูลอิสระหรือการเกิดภาวะ oxidative stress มีบทบาทสำคัญต่อพยาธิสภาพการเกิดโรคเบาหวาน งานวิจัยหลายๆงานพบว่าในผู้ป่วยโรคเบาหวานที่ไม่สามารถควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดได้ หรือมีระดับน้ำตาลในเลือดสูง จะทำให้มีผลเพิ่มสารอนุมูลอิสระหรือก่อให้เกิดภาวะ oxidative stress ในร่างกาย ทั้งจากกลไก auto-oxidation of glucose และ non-enzymatic protein glycation [1] อนุมูลอิสระจะถูกปล่อยออกมาในรูปของโมเลกุลที่ไม่ครบวงจรจึงพร้อมที่จะทำปฏิกิริยากับโมเลกุลตัวอื่น มีผลก่อฤทธิ์ที่เป็นพิษ (cytotoxic effect) ต่อ membrane phospholipids หรือมีอันตรายต่อเซลล์ อาทิเช่น lipid peroxidation, ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ (inactivation of enzymes), เปลี่ยนแปลง intracellular oxidation-reduction state และอาจทำลาย DNA ได้ การเพิ่มขึ้นของสารอนุมูลอิสระอาจเป็นผลมาจากการสร้างสารอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้น และ/หรือ มีการทำลายสารอนุมูลอิสระลดลง โดยปกติร่างกายมีกลไกที่จะลดสารอนุมูลอิสระ โดยอาศัยเอนไซม์ที่มีบทบาทเกี่ยวกับการทำลายสารอนุมูลอิสระ (antioxidant enzymes)ได้แก่ glutathione peroxidase (GSH-Px) หรือ superoxide dismutase (SOD) หรือ อาศัยกลไกที่ไม่พึ่งเอนไซม์ (non-enzymatic scavenger components) ได้แก่ glutathione และ

วิตามินอี ซึ่งสามารถปกป้องเซลล์จากภาวะ oxidative stress ได้ [2] ในผู้ป่วยเบาหวานยังพบว่าการเพิ่มขึ้นของ สารอนุมูลอิสระหรือภาวะ oxidative stress เป็นกลไกสำคัญที่เกี่ยวข้องการเกิดพยาธิสภาพของโรคเบาหวาน เช่น การหลั่ง insulin ลดลง , ภาวะดื้อต่อ insulin และการเกิดภาวะแทรกซ้อนต่างๆของโรคเบาหวาน ได้แก่ โรคต้อกระจก (cataract) , โรคความดันโลหิตสูง (hypertension), โรคหลอดเลือดอุดตัน (arteriosclerosis), โรคไตวาย (renal failure) และโรคหัวใจ เป็นต้น ทั้งนี้มีรายงานว่าอัตราป่วยและอัตราตายของประชากรโลกเพิ่มขึ้นจากทั้งโรคเบาหวานโดยตรง และจากภาวะแทรกซ้อนดังกล่าวข้างต้น [3]

<u>ภาวะแทรกซ้อนของระบบหลอดเลือดในผู้ป่วยโรคเบาหวาน</u>

ภาวะความผิดปกติของขบวนการเมทาบอลิซึมในโรคเบาหวานอาจจะนำไปสู่การเกิดการตอบสนองของหลอดเลือดต่อสารต่าง ๆ ที่ผิดปกติ [4] จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าสาเหตุสำคัญของการเกิดความผิดปกติดังกล่าวเกิดจากการทำงานของ endothelial cell ของหลอดเลือดที่ผิดปกติ endothelial cell ซึ่งเป็นเซลล์ที่เรียงตัวชั้นเดียวอยู่ในชั้นในสุดของหลอดเลือด มีหน้าที่สำคัญในการควบคุมความตึงตัวของหลอดเลือด และมีผลควบคุมการไหลเวียนเลือดสู่อวัยวะต่าง ๆ ในภาวะเบาหวานจะมีการคลายตัวของการตึงตัวของหลอดเลือด และมีผลลดการไหลเวียนเลือดสู่อวัยวะนั้น ๆ ได้ [5] ซึ่งการศึกษาที่ผ่านมาพบว่า เกิดความผิดปกติของการคลายตัวของหลอดเลือดที่เกิดจาก endothelial cell โดยการกระตุ้น ด้วยสาร acetylcholine (ACh) หรือ bradykinin ในหลอดเลือดแดงของหนูที่มีภาวะเบาหวาน [6] นอกจากนี้พบว่า สาร urocortin ซึ่งเป็นเปปไทด์ที่มีฤทธิ์ในการทำให้หลอดเลือด เกิดการคลายตัว มีปริมาณลดลงในภาวะเบาหวาน [7]

มีปัจจัยและกลไกหลายอย่างที่อาจจะเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงการทำงานของหลอดเลือดในโรคเบาหวาน และการเพิ่มขึ้นของอนุมูลอิสระ (reactive oxygen species) ก็เป็นปัจจัยสำคัญปัจจัยหนึ่งที่ทำให้เกิดภาวะความผิดปกติของการทำงานของหลอดเลือดที่เกิดจากภาวะโรคเบาหวาน ขบวนการเมทาบอลิซึมของร่างกายที่ผิดปกติจากการที่มีน้ำตาลกลูโคสสูงภายในเซลล์อาจจะส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงขบวนการหลายอย่างในร่างกาย หนึ่งในขบวนการที่เกิดจากภาวะระดับน้ำตาลกลูโคสมากเกินไปในเซลล์ คือ การเพิ่มขึ้นของอัตราการสันดาปออกซิเจน (oxidative phosphorylation) ภายใต้ภาวะน้ำตาลกลูโคสในเลือดสูงและขบวนการที่มีการเพิ่มขึ้นของเมทาบอลิซึมของกลูโคสกับซอบิทอล (sorbitol) โดยเอ็นไซม์ aldose reductase ซึ่งมีผลทำให้มีการสร้าง superoxide anion และ hydrogen peroxide ซึ่งเป็นอนุมูลอิสระ (reactive oxygen species) เพิ่มขึ้น [8] จากการศึกษา ที่ผ่านมาพบว่าการเพิ่มขึ้นของระดับน้ำตาลกลูโคส ยังมีผลทำให้การทำงานของเซลล์ประสาทเสียไปหรือเกิดการตายของเซลล์ประสาท (apoptosis) ซึ่งเป็นผลมาจากการเพิ่มขึ้นของระดับอนุมูลอิสระ [9] ดังนั้นอนุมูลอิสระจึงน่าจะเป็นตัวกลางที่สำคัญของการเปลี่ยนแปลงการตอบสนองของขบวนการหลาย ๆ ขบวนการในร่างกาย ภายหลังจากเกิดภาวะ

น้ำตาลกลูโคสสูงในเลือด และพบว่าการเพิ่มขึ้นของระดับอนุมูลอิสระที่พบในภาวะน้ำตาลกลูโคสสูงในเลือดนี้ จะยิ่งให้ผลเลวร้ายที่เห็นชัดขึ้นถ้าระบบของการต่อต้านอนุมูลอิสระของร่างกายมีประสิทธิภาพลดลง เช่น มีการลดลงของระดับ glutathione ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีอยู่ในเลือด หรือมีการลดลงของเอนไซม์ที่ต้านอนุมูลอิสระเช่น catalase, glutathione peroxidase และ superoxide dismutase

นอกจากนี้จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่า ในโรคเบาหวานจะมีความผิดปกติของการออกฤทธิ์ของอินซูลินเกิดขึ้นในกล้ามเนื้อ เนื้อเยื่อไขมัน รวมถึง endothelial cell ของหลอดเลือด เช่น มีการลดลงของตัวรับอินซูลิน (insulin receptor) ความผิดปกติของการส่งสัญญาณภายในของอินซูลิน (insulin signaling) เช่น มีการลดลงของการกระตุ้น phosphatidylinositol-3-kinase (PI3K), Akt-mediated glucose transport ซึ่งมีผลต่อการขนส่งกลูโคสเข้าเซลล์ [10] นอกจากนี้พบว่าความผิดปกติของ insulin signaling ยังส่งผลต่อการกระตุ้นการทำงานของเอ็นไซม์ที่ใช้ในการสร้าง nitric oxide (endothelial nitric oxide synthase, eNOS) [11, 12] ในปี 2009 มีรายงานว่าความผิดปกติของ insulin signaling ที่เกิดในภาวะเบาหวาน มีผลเพิ่มความเสี่ยงของการเกิดโรคหลอดเลือดอุดตันในการศึกษาในการเพาะเลี้ยง endothelia cell [13] ดังนั้นความผิดปกติของ insulin signaling ในหลอดเลือด จึงน่าจะเป็นสาเหตุสำคัญของการเกิดภาวะแทรกซ้อนของหัวใจและหลอดเลือดในภาวะเบาหวาน

<u>ภาวะแทรกซ้อนของระบบไตในผู้ป่วยโรคเบาหวาน</u>

ภาวะความผิดปกติของการทำงานที่ไตจากโรคเบาหวาน (diabetic nephropathy) เป็นสาเหตุที่สำคัญของการตายและทุพลภาพของผู้ป่วยเบาหวาน จากการศึกษาพบว่าอย่างน้อย 25% ของผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 1 และ 30 - 40% ของผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 สุดท้ายแล้วจะดำเนินไปสู่การเกิดภาวะความผิดปกติของการทำงานของไต โดยในระยะแรกของโรคจะพบการเปลี่ยนแปลงของระบบไหลเวียนโลหิตที่ไตซึ่งมีผลทำให้เกิดการเพิ่มขึ้นของการกรองที่โกลเมอรูรัส (glomerular filtration) และเริ่มพบโปรตีนในปัสสาวะ ความสามารถในการขับถ่ายของเสียทางท่อไตลดลง ซึ่งจะเกิดขึ้นส่วนใหญ่ในท่อไตส่วนต้น **(**proximal tubules**)** โดยเซลล์ท่อไตส่วนนี้ประกอบด้วยผนังเซลล์สองด้านคือ ผนังเซลล์ด้านที่ติดกับหลอดเลือด (basolateral membrane) กับด้านที่ติดกับท่อไต (luminal or apical membrane) ซึ่งผนังเซลล์ทั้งสองด้านนี้มีการแสดงออกของโปรตีนขนส่งสารหลายชนิด (expression of transporters) รวมทั้ง โปรตีนขนส่งสารอินทรีย์ประจุลบหรือบวก (organic anion transporters, OATs, or organic cation transporters, OCTs) โปรตีนขนส่งเหล่านี้ มีหน้าที่สำคัญในการดูดกลับสารอินทรีย์เข้าสู่กระแสเลือดและขับสารอินทรีย์ที่ร่าง กายต้องการกำจัดออกทางท่อไต โปรตีนขนส่งสารอินทรีย์สามารถขนส่งสารจากที่ร่างกายสร้างขึ้น (endogenous compounds), สารเมตาบอไลท์จากยาที่รับประทานเข้าไปหลายชนิด หรือแม้แต่สารพิษและโลหะ

หนักต่างๆ (xenobiotics and heavy metals) ซึ่งสารเหล่านี้ได้แก่ ฮอร์โมน estrogen และสารเมตาบอไลท์, ยาต้านการอักเสบแบบไม่ใช่สเตียรอย (nonsteroidal antiflammatory drugs), ยาต้านมะเร็ง (anticancer), ยาขับปัสสาวะ (antidiuretic), ยาต้านไวรัส (antiviral) และ สารหรือโลหะหนักที่จับกับ glutathione หรือ glucuronide (glutathione- or glucuronide conjugates) [14, 15] นอกจากนี้โปรตีนขนส่งสารอินทรีย์ยังมีส่วนสำคัญต่อผลทางเภสัชจลนศาสตร์ (pharmacokinetic) โดยมีผลต่อระดับยาที่ขนส่งผ่านโปรตีนเหล่านี้ในกระแสเลือด และยังเป็นโปรตีนเป้าหมายที่ทำให้เกิดปฏิสัมพันธ์ของยา (drug-drug interaction)

จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่า หนูที่ถูกเหนี่ยวนำให้มีภาวะเบาหวาน มีการเปลี่ยนแปลงเภสัชจลนศาสตร์ของยา oltipraz, torasemide, furosemide และ methrotrexate [16-19] อย่างไรก็ตาม ในการศึกษานี้ไม่มีการรายงานถึงการเปลี่ยนแปลงการแสดงออกและการทำงานของโปรตีนขนส่งสารอินทรีย์ประจุลบและบวกในภาวะเบาหวาน ในขณะที่นักวิจัยกลุ่มหนึ่งพบว่าการทำงานของโปรตีนขนส่งสารอินทรีย์ประจุบวกในท่อไต ในหนูที่ถูกเหนี่ยวนำให้มีภาวะเบาหวาน มีประสิทธิภาพในการทำงานลดลง ซึ่งสาเหตุเกิดจากการลดลงของปริมาณการแสดงออกของโปรตีนขนส่งสารอินทรีย์ประจุบวก (down-regulation of organic cation transporter) บนผนังท่อไต [20, 21] และมีงานวิจัยที่แสดงถึงการขับปริมาณสาร hippurate ซึ่งเป็นสารอินทรีย์ประจุลบลดลงในผู้ป่วยเบาหวาน [22] อย่างไรก็ตามยังไม่มีรายงานเกี่ยวกับกลไกการเปลี่ยนแปลงการแสดงออกและการทำงานของโปรตีนขนส่งสารอินทรีย์ประจุบวกและลบในภาวะน้ำตาลกลูโคสในเลือดสูง

ปัจจัยและกลไกหลายอย่างที่อาจจะเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงการทำงานและการแสดงออกของโปรตีนขนส่งสารอินทรีย์ประจุลบในโรคเบาหวาน ซึ่งน่าจะรวมถึงการเพิ่มขึ้นของสารอนุมูลอิสระ (Reactive Oxygen Species) [9] ซึ่งเกิดจากการเพิ่มขึ้นของอัตราการสันดาปออกซิเจน (oxidative phosphorylation) ภายใต้ภาวะน้ำตาลกลูโคสในเลือดสูง, จากการทำงานที่เพิ่มขึ้นของเอ็นไซม์ NADH reductase และจากขบวนการที่มีการเพิ่มขึ้นของเมทาบอลิซึมของกลูโคสกับซอบิทอล (sorbitol) โดยเอ็นไซม์ aldose reductase [23] ซึ่งสิ่งเหล่านี้เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่ทำให้เกิดภาวะความผิดปกติของการทำงานของไตที่เกิดจากการเป็นโรคเบาหวาน โดยมีผลทั้งใน mesangial cells บริเวณ glomerulus และเซลล์ของท่อไต [24] ดังนั้น สารอนุมูลอิสระจึงน่าจะเป็นตัวกลางที่สำคัญของการเปลี่ยนแปลงการทำงานของไต โดยในทางปฏิบัติเราสามารถวัดได้จากระดับ glutathione ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีอยู่ในเลือดที่น่าจะมีจำนวนหรือปริมาณที่ลดลง หรือเอนไซม์ที่ต้านอนุมูลอิสระเช่น catalase, glutathione peroxidase และ superoxide dismutase ทำงานลดลง เมื่อมีการเพิ่มขึ้นของสารอนุมูลอิสระและ/หรือมีการลดลงของการทำงานของสารและเอนไซม์ที่ต้านอนุมูลอิสระ จะทำให้เกิดปฏิกิริยาระหว่างสารอนุมูลอิสระกับกรดอะมิโนบางชนิด และทำให้เกิดปฏิกิริยา lipid peroxidation ส่งผลต่อการ

เปลี่ยนแปลงการทำงานของโปรตีนต่างๆ ทั้งที่อยู่ในเซลล์และที่อยู่ที่ผนังของเซลล์ที่ท่อไตได้ เช่น ภาวะที่มีไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ซึ่งเป็นสารอนุมูลอิสระตัวหนึ่ง ทำให้มีการเพิ่มขึ้นของภาวะ lipid peroxidation และทำให้การทำงานของโปรตีนขนส่งโซเดียมและกลูโคส (sodium-glucose cotransporter) ลดลง [23] หรือสารอนุมูลอิสระ สามารถกระตุ้นการทำงานที่เพิ่มขึ้นของ PKC ได้ในภาวะที่เป็นโรคเบาหวาน [25]

ความผิดปกติของโปรตีนขนส่งที่เกิดขึ้นนี้ ไม่ว่าจะเกิดเนื่องจาก การมีจำนวนที่ลดลง หรือจากการทำงานที่ลดลง จะส่งผลให้เกิดเปลี่ยนแปลงอัตราการขับสารต่างๆ ทางท่อไต ทำให้ไม่สามารถขับถ่ายสารอินทรีย์ต่างๆ ออกจากร่างกายได้ เกิดการสะสมในเนื้อไตและอาจเกิดภาวะไตเป็นพิษ (Nephrotoxicity) ได้ในที่สุด ปัจจุบันมีรายงานพบว่า การลดลงของโปรตีนขนส่งสารอินทรีย์ประจุลบที่ผนังท่อเซลล์อาจเกิดจากการกระตุ้น PKC [26-29] ซึ่งหากโปรตีนตัวกลางนี้ทำงานมากขึ้น จะส่งผลให้จำนวนโปรตีนขนส่งสารอินทรีย์ประจุลบมีปริมาณการแสดงออกที่ผนังเซลล์มีจำนวนลดลง และทำให้ส่งผลต่อการทำงานในการขนส่งสารอื่นๆ ในท่อไต ลดลงด้วยเช่นกัน

<u>สาหร่ายเตาและคุณค่าทางโภชนาการ</u>

สาหร่าย *Spirogyra neglecta* มีชื่อสามัญว่า “เตา” หรือ “เทา” เป็นสาหร่ายน้ำจืดสีเขียวขนาดใหญ่ จัดอยู่ใน Division Chlorophyta, Order Zygnematales, Class Zygnemaphyceae, Family Zygnemataceae ลักษณะของสาหร่ายชนิดนี้จะเป็นเส้นสายยาว ไม่แตกแขนง คล้ายเส้นผมสีเขียวสด จับดูจะรู้สึกลื่นมือ เนื่องจากมีเมือกหุ้มอยู่ภายนอก เซลล์จะมีรูปร่างเป็นรูปทรงกระบอก มักเกิดรวมกันเป็นกลุ่ม อาจอยู่ที่ก้นบ่อกับก้อนดิน ก้อนหิน หรืออาจจะลอยอยู่บริเวณผิวน้ำ [30]

สาหร่ายเตานี้สามารถนำมารับประทานได้ โดยเฉพาะประชาชนทางภาคเหนือ ประชาชนในแถบลุ่มแม่น้ำน่านและลุ่มแม่น้ำโขง จะทำการเก็บสาหร่ายเตาที่เจริญบริเวณพื้นท้องน้ำหรือบริเวณที่เกาะกับก้อนหิน ก้อนกรวดในน้ำในช่วงเวลาที่สาหร่ายเจริญเติบโตได้ดี คือในช่วงฤดูหนาวถึงฤดูร้อน แล้วนำมาทำความสะอาด ตากแดดให้แห้ง จากนั้นอาจจะเก็บไว้ในถุงทึบแสงเพื่อป้องกันไม่ให้สีของสาหร่ายจางลง เนื่องจากคลอโรฟิลล์ถูกทำลาย หรืออาจจะนำสาหร่ายสดมาประกอบอาหารเลยก็ได้ เช่น นำมาทำยำเตาสด หรือนำสาหร่ายแห้งมาบดให้ละเอียดปรุงด้วยเกลือ กระเทียมเจียว งาและพริกป่นรับประทานกับข้าวเหนียวเป็นอาหารประจำวัน นอกจากนั้นยังมีการจำหน่ายสาหร่ายสดเพื่อนำไปทำเป็นข้าวเกรียบเตาอีกด้วย

สำหรับคุณค่าทางโภชนาการของสาหร่ายนี้ พบรายงานว่า ประกอบด้วยโปรตีน 23.76% ไขมัน 2.86% คาร์โบไฮเดรต 53.89% เส้นใย (fiber) 6.24% โดยคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง [30] ได้ทำการศึกษาสาหร่ายเตา โดยศึกษาถึงอนุกรมวิธาน นิเวศวิทยา การเพาะเลี้ยง การ

นำมาศึกษาคุณค่าทางโภชนาการ และนำมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ โดยใช้สาหร่ายนาข้าวเขต อำเภอเมือง จังหวัดลำพูน และอำเภอสันกำแพง จังหวัดเชียงใหม่พบสาหร่ายเตามีคุณค่าทางโภชนาการคือ โปรตีน 18.63% ไขมัน 5.21% คาร์โบไฮเดรต 56.31% เส้นใย (fiber) 7.66% และเถ้า 11.78 % นอกจากนั้นสาหร่ายเตายังประกอบด้วยกรดอะมิโนในปริมาณที่สูง ได้แก่กรดอะมิโนที่จำเป็น เช่น leucine 9.48% lysine 8.99% และกรดอะมิโนไม่จำเป็นต่อร่างกายจำเป็น เช่น alanine 14.06% glutamic acid 12.97% .

ในการสำรวจแหล่งสาหร่ายในลำน้ำน่าน ยุวดีและคณะ (2549) [30] พบว่านอกจากในแหล่งน้ำธรรมชาติแล้ว ยังมีการเพาะเลี้ยงสาหร่ายเตาหรือการทำนาเตาโดยชาวบ้านในอำเภอเมือง จังหวัดน่านและชาวบ้านชุมชนบ้านนาคูหา ตำบลสวนเขื่อน อำเภอเมือง จังหวัดแพร่ ซึ่งมีการเพาะเลี้ยงสาหร่ายเตาเป็นอาชีพมาเป็นระยะเวลามากกว่า 5 ปี โดยเมื่อหมดฤดูกาลปลูกข้าวแล้ว ชาวบ้านจะปล่อยให้สาหร่ายเตาเจริญอยู่ในบริเวณนาข้าวจนสามารถเก็บเกี่ยวขายได้ ปัจจุบันชาวบ้านประสบปัญหาสาหร่ายเตาสดที่เก็บเกี่ยวมาขายไม่ได้ราคาและถ้าเหลือแล้วจำเป็นต้องทิ้ง ชาวบ้านจึงมีความต้องการจะเพิ่มมูลค่าของสาหร่ายเตาในรูปแบบของอาหารสุขภาพเพื่อเป็นการเพิ่มรายได้ หากมีความต้องการของตลาดมากขึ้น ชาวบ้านสามารถจะขยายพื้นที่ในการเพาะขยายพันธุ์เพิ่มขึ้นได้เนื่องจากสาหร่ายเตาสามารถเจริญได้อย่างต่อเนื่องในน้ำนิ่ง

<u>การศึกษาเกี่ยวกับสาหร่ายเตาและสารสกัดทางชีวภาพของสาหร่ายเตาเพื่อนำมาใช้ประโยชน์</u>

ในสาหร่ายมีสารสกัดทางชีวภาพหลายชนิด เช่น รงควัตถุ และโพลีแซคคาไรด์ สำหรับรงควัตถุนั้นอาจจะเป็นไฟโคไซยานินหรือไฟโคเออริธรินจากสาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียว ที่ให้สีน้ำเงินหรือม่วง เบต้าแคโรทีนซึ่งให้สีส้มแดงหรือเหลือง สารสกัดรงควัตถุเหล่านี้เป็นสีจากธรรมชาติซึ่งนอกจากจะให้สีต่างๆดังกล่าวข้างต้น สารสกัดรงควัตถุบางชนิดยังเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ [30] และยังสามารถใช้สีสารสกัดรงควัตถุเหล่านี้ไปเป็นตัวติดตามตรวจสอบทางชีวโมเลกุลเนื่องจากบางชนิดสามารถเรืองแสงได้

สำหรับสารพวกโพลีแซคคาไรด์ หรือน้ำตาลหลายโมเลกุล ซึ่งประกอบด้วยโมโนแซคคาไรค์หลายชนิดแต่จะมีปริมาณที่แตกต่างกัน และน้ำตาลเหล่านี้สามารถพัฒนาเป็นน้ำตาลประเภทโอลิโกแซคคาไรด์โดยกิจกรรมของเอ็นไซม์จากจุลินทรีย์บางชนิด ซึ่งเคยมีรายงานการศึกษาพบว่าโอลิโกแซคคาไรด์หลายชนิดมีคุณสมบัติเป็นสารพรีไบโอติค และบางชนิดสามารถเป็นสารเพิ่มภูมิคุ้มกันในคน

การนำมาเป็นยารักษาโรคส่วนใหญ่มักจะเป็นสาหร่ายทะเล แต่สำหรับในสาหร่ายน้ำจืดมีผู้ที่ศึกษาไว้พอสมควร เช่น รายงานของ Gustafson *et al*. (1989) [31] กล่าวไว้ว่าสาร Sulfolipid ในสาหร่าย *Lyngbya lagerheimii* และ *Phormidium tenue* จะยับยั้งการเกิด syncytium ของเซลล์จากการติดเชื้อ HIVในมนุษย์ ในขณะที่ Tokuda *et al*. (1996) [32] พบว่าสาร Digalactosyl

diacylglycerols ใน *Phormidium tenue* จะยับยั้งการเกิดมะเร็งผิวหนัง นอกจากนั้น Jensen *et al*.(2001) [33] ยังรายงานว่า รงควัตถุพวก β-carotene, lycopene, lutein และ phycocyanin มีคุณสมบัติเป็น antioxidant ที่ดีมากซึ่งสามารถลดการอักเสบของเนื้อเยื่อได้[7]

จากการศึกษาของฐิติกานต์ (2008) [34] พบว่า สาหร่ายเตา *(Spirogyra neglecta*) มีคุณสมบัติในการต้านสารอนุมูลอิสระสูง ซึ่งสารอนุมูลอิสระมีบทบาทในการเกิดการอักเสบ และการทำลายเนื้อเยื่อ มีผลต่อความเสื่อมหรือการแก่ของเซลล์ และเป็นสาเหตุสำคัญของการเกิดภาวะแทรกซ้อนในโรคเบาหวาน เช่น ภาวะเส้นเลือดอุดตัน ความดันลิตสูง ภาวะไตวาย อนุมูลอิสระที่มีความสำคัญทางชีวภาพได้แก่ Superoxide radicals, Hydrogen peroxide และ Hydroxyl radicals เป็นต้น

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ผลการทดลองจากการศึกษาในครั้งนี้ จะสามารถนำข้อมูลที่ได้มาอธิบายและประยุกต์ใช้ได้ดังนี้

1. นำมาซึ่งองค์ความรู้ใหม่ถึงการใช้สาหร่ายเตา (*Spirogyra neglecta*) ในการลดระดับน้ำตาลในเลือด ลดภาวะแทรกซ้อนในหลอดเลือดและไตในภาวะเบาหวานชนิดที่ 2 ที่มีระดับน้ำตาลในเลือดสูง

2. สามารถนำความรู้พื้นฐานที่ได้มาทำการศึกษาต่อยอด

3. นำมาประยุกต์และพัฒนาการใช้สาหร่ายเตาในการเป็นอาหารสุขภาพ เพื่อช่วยควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดและป้องกันภาวะแทรกซ้อนทางหลอดเลือดและไตที่เกิดจากเบาหวานชนิดที่ 2 เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการรักษา ทำให้สามารถลดค่าใช้จ่ายในการรักษาพยาบาล โดยการใช้สมุนไพรธรรมชาติที่มีอยู่ในประเทศได้อย่างคุ้มค่าและมีประโยชน์ที่สุด

4. การเผยแพร่

4.1 นำผลการวิจัยไปเผยแพร่ในงานประชุมชาติ นานาชาติและ/หรือตีพิมพ์ในวารสารวิชาการนานาชาติ

4.2 เผยแพร่ความรู้สู่ชุมชนและสู่ระบบสาธารณสุขพื้นฐานเพื่อเป็นแนวทางในการส่งเสริมสุขภาพของประชาชน

5. บริการความรู้แก่ภาคธุรกิจ ผู้ประกอบการแปรรูปสาหร่ายสามารถนำข้อมูลจากการวิจัยไปประชาสัมพันธ์ เพื่อให้การจำหน่ายดีขึ้น หรือผู้ประกอบการด้านผลิตภัณฑ์อาหารสุขภาพสนใจข้อมูลจากการวิจัย อันจะนำไปสู่การพัฒนาผลิตภัณฑ์ต่อไป

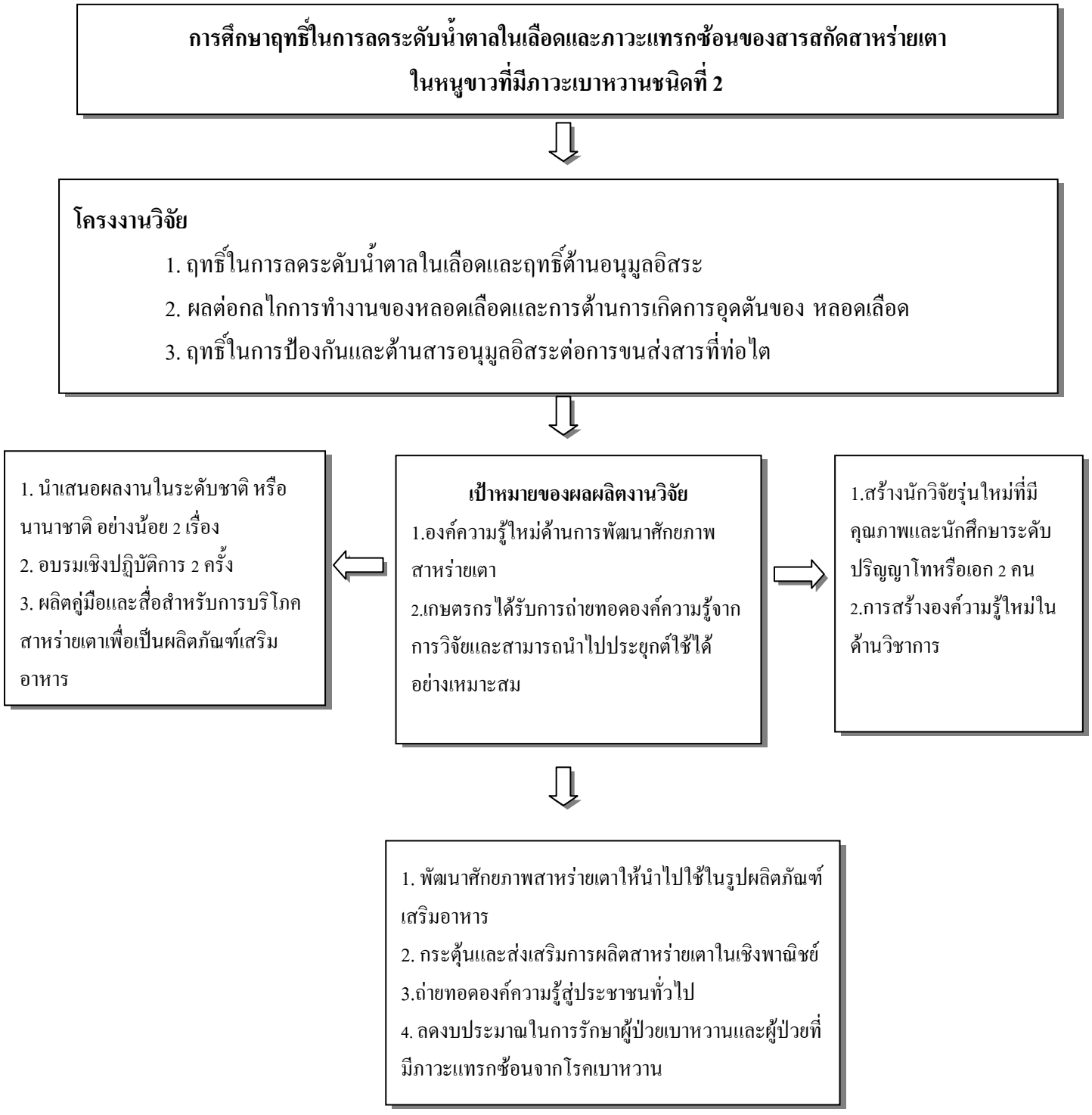
แผนการถ่ายทอดเทคโนโลยีหรือผลการวิจัยสู่กลุ่มเป้าหมายเมื่อสิ้นสุดการวิจัย

1 เผยแพร่ความรู้ทางด้านผลและกลไกการออกฤทธิ์ของสารสกัดสาหร่ายเตา ในการป้องกันภาวะแทรกซ้อนจากระดับน้ำตาลในเลือดสูงที่มีผลต่อการเกิดอนุมูลอิสระที่จะทำให้เกิดการอุดตันของหลอดเลือดและการทำงานของไต ในงานประชุมระดับชาติและหรือนานาชาติและหรือการตีพิมพ์ในวารสาร วิชาการนานาชาติ โดยกลุ่มเป้าหมายหลัก คือ นักวิทยาศาสตร์หรือนักวิจัย ที่มีความสนใจในการประยุกต์ใช้ทรัพยากรธรรมชาติที่มีอยู่ในประเทศ ให้เป็นประโยชน์ทางการรักษาทางการแพทย์

2. ถ่ายทอดองค์ความรู้จากงานวิจัยสู่ชุมชนและสู่ระบบสาธารณะสุขขั้นพื้นฐานในรูปสื่อต่าง ๆ เช่น หนังสือพิมพ์ วารสาร นิตยสาร โดยกลุ่มเป้าหมายหลัก คือ เจ้าหน้าที่สาธารณสุขชุมชนและชาวบ้าน ได้แก่ ชุมชนบ้านแม่ลัว ต.ป่าแดง อ.เมือง จ.แพร่ และชุมชนอื่น ๆ ที่มีความสนใจ ได้แก่ ชุมชนบ้านหนองมะจับ หมู่1 ต.แม่แฝก อ.สันทราย จ.เชียงใหม่ ซึ่งอาจมีผลให้บุคคลเหล่านี้หันมารับประทานผลิตภัณฑ์จากสาหร่ายน้ำจืดขนาดใหญ่เพิ่มขึ้น ซึ่งอาจจะทำให้การใช้ยาแผนปัจจุบันลดน้อยลง ในขณะที่ประชาชนมีสุขภาพดีขึ้น

3. แนะนำให้ชุมชนมีการรวมกลุ่มเป็นสหกรณ์หรือกลุ่มแม่บ้าน เพื่อให้เกิดความเข้มแข็งและความต่อเนื่องในด้านการตลาดเกี่ยวกับสาหร่ายเตาเพื่อเป็นการเพิ่มรายได้ให้แก่กลุ่มได้อย่างแท้จริง

สรุปกรอบแนวความคิดของการวิจัย



รูปที่ 1 แนวคิดกระบวนการพัฒนาศักยภาพของสาหร่ายเตา

บทที่ 2

ระเบียบวิธีดำเนินการวิจัย (Materials and Methods)

แผนการวิจัยและวิธีการทดลอง

1) <u>วิธีการวิจัยทางพฤกษเคมี</u>

1.1 เก็บรวบรวมสาหร่าย :- เก็บสาหร่ายเตา จากบ้านนาคูหา ตำบลสวนเขื่อน อำเภอเมือง จังหวัดแพร่ นำสาหร่ายที่เก็บได้มาล้างด้วยน้ำประปาหลายๆครั้งจนสะอาด จากนั้นนำมาผึ่งลมให้มีความหมาดพอสมควร แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 50 °C จนกว่าสาหร่ายจะแห้ง

1.2 พิสูจน์เอกลักษณ์ของสาหร่าย :- โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา (morphology) ทั้งจากเซลล์ปกติ และเซลล์สืบพันธุ์ รวมถึงที่อยู่อาศัย (habitat) โดยสาหร่ายเตา (*Spirogyra neglecta*) ต้องทำให้เซลล์เกิดความเครียด เพื่อให้สร้างท่อคอนจูเกชัน (conjugation tube) ซึ่งเป็นส่วนสำคัญในการบ่งชี้ชนิด (species) จากนั้นศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์ ทำการตรวจสอบกับหนังสือและเอกสารที่เกี่ยวข้อง

1.3 เตรียมสารสกัดน้ำของสาหร่ายเตา :- วิธีการเตรียมสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่ายน้ำจืด แสดงในรูปที่ 2

สาหร่ายแห้งตัดเป็นชิ้นเล็กๆ ปั่นผสมกับน้ำกลั่น

ต้มใน water bath ที่ 90-100 °C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง

↓ กรอง

ส่วน filtrate ที่ได้ระเหยให้แห้งโดยใช้ rotary evaporatorที่อุณหภูมิ 60 °C ภายใต้สูญญากาศ

↓

ทำให้แห้งด้วยเครื่อง Freeze dry

↓

สารสกัดน้ำของสาหร่ายน้ำจืด

รูปที่ 2 แผนภูมิแสดงวิธีการเตรียมสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่ายเตา

1.4 การตรวจคัดกรองทางพฤกษเคมี (phytochemical screening) เพื่อตรวจหาชนิดและปริมาณสารที่พบในสาหร่ายเตา โดยทำซ้ำ 3 ครั้ง

1.4.1 การวิเคราะห์ปริมาณโพลีฟีนอล :- ตรวจวิเคราะห์ปริมาณของโฟลีฟีนอลทั้งหมดในสารสกัดของสาหร่ายสามารถวิเคราะห์ได้โดยใช้สารละลาย Folin-Ciocalteu ตามวิธีการของ Sachindra *et al.* (2010) [35]โดยใช้ตัวอย่างที่ละลายใน methanol 0.1 ml ผสมกับ สารละลาย Folin-Ciocalteu ความเข้มข้น 10% ปริมาตร 0.75 ml และนำไปบ่มที่ 37 °C เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นเติม

สารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้น 6% ลงไป 0.75 ml ผสมให้เข้ากันและทิ้งไว้ที่ 37°C เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำไปวัดความยาวคลื่นที่ 750 นาโนเมตร คำนวณปริมาณกลุ่มสารประกอบฟีนอลิกโดยเทียบกับ gallic acid ปริมาณของสารโพลีฟีนอลรายงานผลเป็น gallic acid equivalents (GAE)

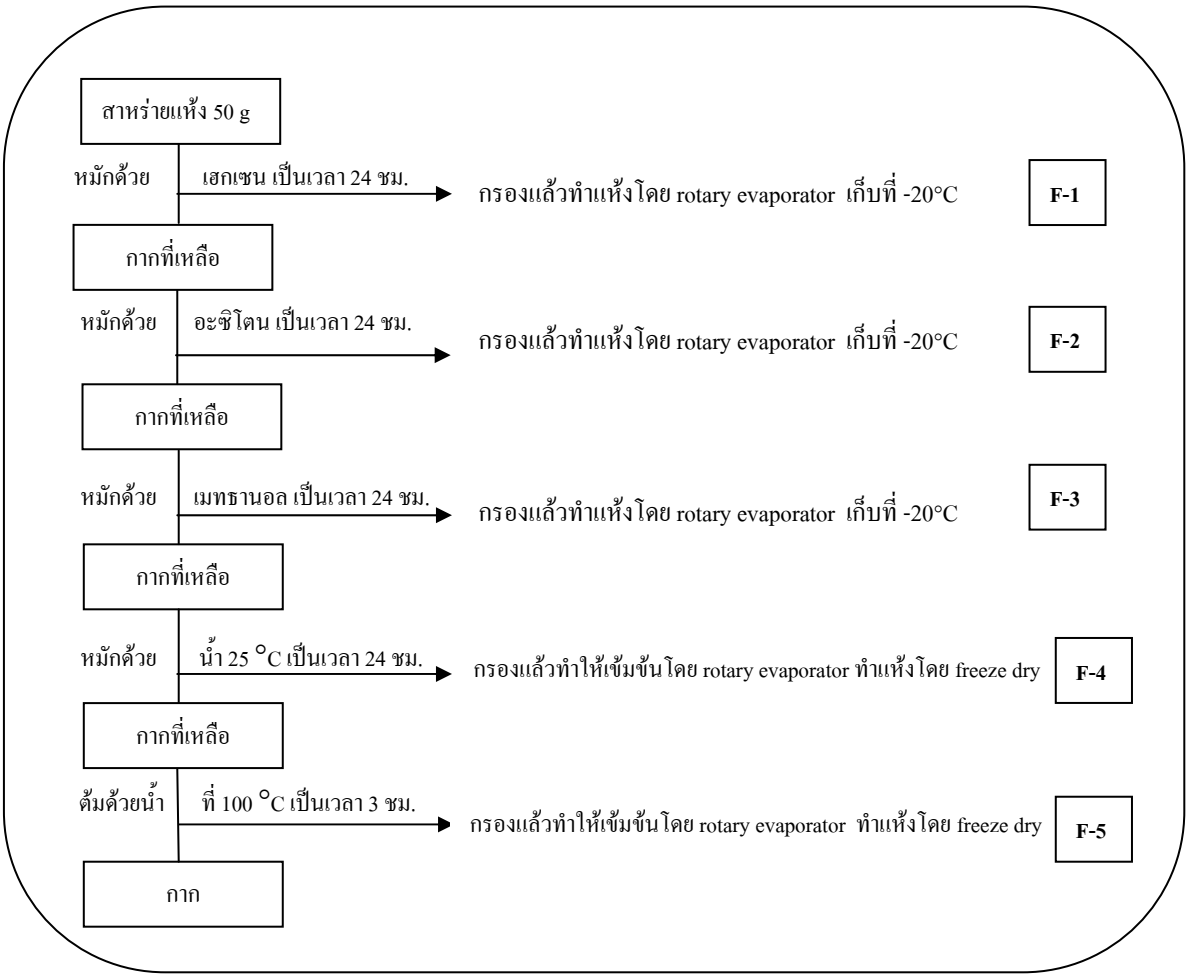
1.4.2 การวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรตและซัลเฟตโพลีแซคคาไรด์ :- นำตัวอย่างสาหร่ายแห้ง 50 กรัม มาสกัดด้วยเฮกเซน อะซิโตน และ methanol เรียงตามลำดับ ใช้ตัวทำละลาย 500 มิลลิลิตร สกัดโดยใช้เครื่อง Soxhlet extractor เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และสกัดซ้ำอีกครั้งด้วยวิธีการเดิม จากนั้นนำสารสกัดที่ได้ทั้งสองครั้งมารวมกันและกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 2 จากนั้นนำไปทำแห้งด้วยเครื่อง rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 40 °C เก็บตัวอย่างที่ได้ในขวดสีชาและเป่าด้วยก๊าซไนโตรเจน จากนั้นนำไปแช่ที่ -20 °C จนกว่าจะนำไปวิเคราะห์ กากที่เหลือนำไปสกัดต่อด้วยน้ำ ในอัตราส่วนสาหร่าย:น้ำ เท่ากับ 1: 50 ที่อุณหภูมิ 25 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นกรองตัวอย่างและสกัดกากที่เหลือด้วยวิธีการเดียวกันอีกครั้งหนึ่ง นำสารละลายที่ได้ทั้งสองครั้งมารวมกัน และนำไปทำให้เข้มข้นขึ้นด้วยเครื่อง rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 40 °C และนำไปทำแห้งด้วย freeze dryer กากที่เหลือจากขั้นตอนนี้นำไปสกัดต่อโดยการต้มในขวดก้นกลมขนาด 2 ลิตร ที่ต่อด้วย condenser เป็นเวลา 3 ชั่วโมง กรองแยกสารละลายที่ได้ นำไปทำให้เข้มข้นขึ้นด้วยเครื่อง rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 40 °C และนำไปทำแห้งด้วย freeze dryer การสกัด F1-F3 เป็นขั้นตอนที่ใช้ในการสกัดสีออกจากสาหร่าย ส่วน F4-F5 เป็นวิธีที่ใช้ในการสกัดโพลีแซคคาไรด์ โดยสารที่ได้จะมีลักษณะต่างกันโดยเฉพาะในเรื่องของ molecular weight และปริมาณซัลเฟต ขั้นตอนการสกัดแบบลำดับส่วนแสดงในรูปที่ 3 ในการตรวจวิเคราะห์ปริมาณของ total carbohydrate ใช้วิธีการ phenol-sulfuric acid โดยใช้ D-glucose เป็นสารมาตรฐาน [36] ส่วนการตรวจวิเคราะห์ปริมาณของซัลเฟตของสารสกัดใช้วิธีการ $BaCl_2$-Gelatin turbidimetric [37] โดยใช้ K_2SO_4 เป็นสารมาตรฐาน

1.5 ทดสอบฤทธิ์ขจัดอนุมูลอิสระ (Scavenging activity of $ABTS^{+\bullet}$ radical cation)

อ้างอิงจากวิธีการของ Re *et al.* [38] ดังนี้ เตรียมน้ำยา 2, 2'-azino-bis 3-ethylbenzthiazoline -6-sulfonic acid (ABTS) โดยการผสม 7 uM ของ ABTS 5 มล. กับ 140 uM ของ $K_2S_2O_8$ 88 ไมโครลิตร เก็บในที่มืด 16 ชั่วโมง เจือจางด้วย 95 % ethanol ในการวัดฤทธิ์กำจัดอนุมูล ABTS หยดน้ำยานี้ 1 มล.ลงในหลอดที่มีสารทดสอบหรือ methanol ผสมให้เข้ากัน ทิ้งไว้ 6 นาที วัดค่าดูดกลืนแสงที่ 734 นาโนเมตรโดยใช้ ethanol เป็น blank คำนวณฤทธิ์กำจัดอนุมูล $ABTS^{\bullet+}$ เป็นร้อยละได้ดังนี้

ฤทธิ์กำจัดอนุมูล ABTS (%) = [1- (A734 sample / A734 MeOH] x 100

เมื่อ A734 sample และ A734 MeOH เป็นค่าดูดกลืนแสงที่ 734 นาโนเมตรของสารทดสอบและ methanol ตามลำดับ เปรียบเทียบความเข้มข้นของสารทดสอบกับความเข้มข้นของ Trolox ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของวิตามินอีที่แสดงฤทธิ์เท่ากัน (Trolox equivalent antioxidant capacity, TEAC)



รูปที่ 3 แสดงวิธีการสกัดลำดับส่วนของสาหร่ายเตา

2) <u>วิธีการวิจัยการทดสอบฤทธิ์ชีวภาพในสัตว์ทดลอง</u>

กิจกรรมที่ 1 : การเตรียมสัตว์ทดลอง

หนูขาวเพศผู้พันธุ์ wistar (น้ำหนักตัว 200 - 250 กรัม) โดยแบ่งออกเป็น10 กลุ่มกลุ่ม ๆ ละ 10 ตัว ได้แก่

กลุ่มที่ 1: กลุ่มควบคุม (control)

กลุ่มที่ 2 : กลุ่มควบคุมได้รับสารสกัดสาหร่ายเตาความเข้มข้นสูง (1000 mg/kg BW) (control +SN1000)

กลุ่มที่ 3 : กลุ่มเบาหวานควบคุม (DM)

กลุ่มที่ 4 : กลุ่มเบาหวานได้รับสารสกัดสาหร่ายเตา ความเข้มข้นต่ำ (250 mg/kg BW) (DM+SN250)

กลุ่มที่ 5 : กลุ่มเบาหวานได้รับสารสกัดสาหร่ายเตา ความเข้มข้นปานกลาง (500 mg/kg BW) (DM+SN500)

กลุ่มที่ 6 : กลุ่มเบาหวานได้รับสารสกัดสาหร่ายเตา ความเข้มข้นสูง (1000 mg/kg BW) (DM+SN1000)

กลุ่มที่ 7 : กลุ่มเบาหวานได้รับยา methformin ขนาด 30 mg/kg BW(DM+met)

กลุ่มที่ 8: กลุ่มควบคุมได้รับ corn oil (control+corn oil)

กลุ่มที่ 9 : กลุ่มเบาหวานได้รับ corn oil (DM+corn oil)

กลุ่มที่ 10: กลุ่มเบาหวานได้รับ vitamin E ขนาด 100 mg/kg BW (ละลายใน corn oil) (DM+vit E)

สัตว์ทดลองในกลุ่มที่ 3, 4, 5, 6, 7, 9 และ 10 จะถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะเบาหวานชนิดที่ 2 โดยการให้อาหารไขมันสูง (ปริมาณไขมัน 60% ของจำนวนพลังงานทั้งหมดในอาหาร) เป็นเวลา 2 สัปดาห์ จากนั้นฉีดสาร streptozotozin (STZ) ขนาด 35 mg/kg BW เข้าทางช่องท้อง โดยสัตว์ทดลองจะได้รับอาหารไขมันสูงต่อเนื่องจนสิ้นสุดการทดลอง ขณะที่กลุ่มควบคุม (กลุ่มที่ 1, 2 และ 8) จะได้รับสารละลาย citrate buffer ปริมาตรที่เท่ากันเข้าทางช่องท้อง ภายหลังจากฉีด STZ เป็นเวลา 2 สัปดาห์ ทำการเก็บตัวอย่างเลือดโดยการตัดหางหนูภายหลังจากสลบด้วยสารอีเธอร์ เพื่อวัดหาระดับกลูโคส (glucose) ไขมันและอินซูลิน (insulin) สัตว์ทดลองที่ถูกฉีดสาร STZ ที่มีระดับพลาสมา glucose ภายหลังอดอาหาร 5 ชั่วโมง $\geq$ 250 mg% จะถือว่าเกิดภาวะเบาหวานและจะถูกนำไปศึกษาทดลอง

ภายหลังจากฉีด STZ เป็นเวลา 2 สัปดาห์ สัตว์ทดลองในกลุ่มที่ 2, 4, 5, และ 6 จะได้รับสารสกัดสาหร่ายเตาโดยการป้อนเข้าปากทุกวัน ในขณะที่สัตว์ทดลองในกลุ่มที่ 10 จะได้รับ vitamin E (α-tocopheryl acetate) ขนาด 100 mg/kg BW ซึ่งละลายในน้ำมันข้าวโพด เป็นระยะเวลาทั้งสิ้น 12 สัปดาห์ สัตว์ทดลองทุกกลุ่มจะได้รับอาหารและน้ำอย่างเพียงพอ ทำการบันทึกน้ำหนักทุกสัปดาห์ตลอดการทดลอง ในสัปดาห์ที่ 12 สัตว์ทดลองจะถูกทดสอบความทนต่อกลูโคส ด้วยวิธี oral glucose tolerance test (glucose 2 g/kg BW) ภายหลังการทดสอบความทนต่อกลูโคสหนึ่งสัปดาห์ สัตว์ทดลองจะถูกทำให้สลบโดยการฉีดสาร pentobarbital sodium เข้าทางช่องท้องหลังจากอดอาหารมาแล้ว 12 ชม. ทำการผ่าตัดเปิดทรวงอกและช่องท้อง เก็บตัวอย่างเลือดจากหัวใจและเนื้อเยื่อต่างๆ ได้แก่ หลอดเลือดแดงใหญ่ที่ทรวงอก (Thoracic aorta) ไขมันสะสมในช่องท้อง (visceral fat), ตับ, ตับอ่อน, กล้ามเนื้อ soleus และ red gastrocnemius, และไตทั้ง 2 ข้างสำหรับ

กิจกรรมการทดลองลำดับต่อไป ส่วนตัวอย่างเลือดจะถูกปั่นเพื่อแยกพลาสมา จากนั้นพลาสมาและเนื้อเยื่อจะถูกเก็บไว้ที่ -70°C เพื่อวิเคราะห์ในภายหลัง

วิธีการทดสอบความทนทานต่อกลูโคส ภายหลังสัตว์ทดลองถูกอดอาหารเป็นเวลา 12 - 14 ชั่วโมง ทำการเก็บตัวอย่างเลือด (~0.5 ml) เป็นค่าเริ่มต้น ณ นาทีที่ 0 โดยการตัดหางหนู จากนั้นป้อนสารละลายกลูโคส (ขนาด 2 g/kg BW) เข้าปากทันทีและทำการเก็บตัวอย่างเลือด ณ นาทีที่ 15, 30, 60, 90 และ 120 หลังจากป้อนสารละลายกลูโคส ตัวอย่างเลือดจะถูกนำมาปั่นเพื่อแยกพลาสมา โดยพลาสมาที่ได้จะถูกเก็บไว้ที่ -70°C เพื่อตรวจหาระดับกลูโคสและอินซูลิน

กิจกรรมที่ 2 : การศึกษาฤทธิ์ในการลดระดับสารเคมี (glucose, insulin และไขมัน) ในเลือดและต่อ insulin signaling ในกล้ามเนื้อลายของสารสกัดสาหร่ายเตาในหนูขาวที่มีภาวะเบาหวานชนิดที่ 2

จุดประสงค์ที่ 1 :- เพื่อศึกษาผลของสารสกัดสาหร่ายเตาในการลดระดับน้ำตาลในเลือดและความไวในการตอบสนองของเนื้อเยื่อร่างกายต่ออินซูลิน (whole body insulin resistance) ในภาวะปกติและภาวะเบาหวานชนิดที่ 2

การวิเคราะห์ทางชีวเคมีในเลือด ทำการตรวจวัดระดับพลาสมา glucose, triglyceride (TG) และ cholesterol โดยใช้เทคนิค enzymatic test โดยใช้ commercial kit และทำการตรวจวัดระดับพลาสมา insulin ใช้เทคนิคการตรวจวัดวิธี ELISA โดยใช้ commercial kit ความไวในการตอบสนองของเนื้อเยื่อร่างกายต่ออินซูลิน (whole body insulin resistance) จะประเมินโดยใช้ HOMA index (HOMA = ผลคูณของระดับ insulin (μU/ml)และระดับ glucose (mmol/l)ในพลาสมา/22.5) ร่วมกับการเพิ่มขึ้นของระดับ glucose ในพลาสมาหลังจากป้อนสารละลายกลูโคสในการทดสอบความทนทานกลูโคสโดยจะแสดงในค่าของพื้นที่ใต้กราฟ (area under curve, AUC)

การวิเคราะห์ทางชีวเคมีในเนื้อเยื่อ ทำการตรวจปริมาณ TG ในตับและ red gastrocnemius เพื่อประเมินภาวะ hepatic and muscle insulin resistance โดยการนำชิ้นเนื้อตับมาบดในสารละลาย chloroform isopropanol และทิ้งไว้ในห้องมืด เมื่อครบ 16 ชั่วโมงดูดสารละลายที่ TG ที่ถูกสกัดจำนวน 1 ml และนำมาอบให้แห้ง จากนั้นจึงนำมาละลายในสารละลาย bovine serum albumin และตรวจหาระดับ TG โดยใช้ commercial kit

จุดประสงค์ที่ 2 :- เพื่อศึกษากลไกของสารสกัดสาหร่ายเตาในการลดระดับน้ำตาลในเลือดและความไวในการตอบสนองของเนื้อเยื่อร่างกายต่ออินซูลิน (whole body insulin resistance) ในภาวะปกติและภาวะเบาหวานชนิดที่ 2

การตรวจวัดปริมาณโปรตีน GLUT4 ในกล้ามเนื้อ soleus โดยใช้ western blot analysis เพื่อประเมินความสามารถในการนำกลูโคสเข้าเซลล์กล้ามเนื้อ โดยนำชิ้นกล้ามเนื้อมาบดและปั่นเพื่อ

แยกส่วนของผนังเซลล์ (membrane fraction) เพื่อนำไปแยกหาโปรตีน จากนั้นนำไปหาปริมาณโปรตีน โดยใช้ primary antibody ต่อ Glut-4 (anti Glut – 4 primary antibody) หลังจากนั้นทำการวัดความเข้มของโปรตีนที่ปรากฏ โดยเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

การศึกษาการส่งสัญญาณภายในของอินซูลิน (insulin signaling) ในกล้ามเนื้อ soleus โดยใช้วิธี western blot analysis โดยการวัดการปรากฏของ insulin receptor-1(IRS-1) และผลของการให้ สารสกัดสาหร่ายเตาต่อการกระตุ้น IRS-1 และ GLUT4 โดยนำเนื้อเยื่อดังกล่าวมาบดโดยใช้เครื่อง homoginizer หลังจากนั้นนำเนื้อเยื่อมาปั่นแยกโดย ใช้เครื่องปั่นแบบหมุนเหวี่ยง เมื่อได้ส่วนของโปรตีนแล้วนำมาหาปริมาณโปรตีนก่อน จากนั้นทำการแยกโปรตีนที่สนใจโดยใช้ primary antibody ต่อ IRS-1 หลังจากนั้นทำการวัดความเข้มของโปรตีนที่ปรากฏ โดยเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

กิจกรรมที่ 3 : การศึกษาผลของสารสกัดสาหร่ายเตาต่อกลไกการทำงานของหลอดเลือดและการต้านการเกิดการอุดตันของหลอดเลือดในหนูขาวที่มีภาวะเบาหวานชนิดที่ 2

จุดประสงค์ที่ 1 :- เพื่อศึกษาผลของสารสกัดสาหร่ายเตาต่อการทำงานของ endothelial cell ของหลอดเลือดในภาวะปกติและภาวะเบาหวานชนิดที่ 2 ที่มีภาวะแทรกซ้อนของหัวใจและหลอดเลือดในระยะแรก

ทำการตัดแยกหลอดเลือด thoracic aorta ทันทีหลังจากทำการการุณฆาตแล้ว จากนั้นค่อยๆ ตัดหลอดเลือดให้มีความยาวประมาณ 4-5 mm ในสารละลาย Krebs-Henseleit pH 7.4 หลังจากนั้นใช้ลวด stainless steel 2 เส้นสอดเข้าไปใน thoracic aortic rings แล้วแขวนปลายข้างหนึ่งเข้ากับ organ bath ส่วนปลายอีกข้างต่อเข้ากับ force transducer และต่อกับ polygraph เพื่อวัด isometric tension โดย passive tension ที่ใช้ดึงหลอดเลือดเริ่มต้นประมาณ 1.5-2 g หลังจากนั้นปล่อยให้หลอดเลือดปรับตัวใน organ bath ที่ควบคุมอุณหภูมิประมาณ 37^{o}C และให้ 95% oxygen and 5% carbon dioxide เพื่อให้ค่า pH 7.4 ตลอดเป็นเวลา 60 นาทีเมื่อครบเวลาหลอดเลือดจะถูกเหนี่ยวนำให้หดตัวโดยใช้ Phenylnephrine ความเข้มข้น 10^{-6} M เมื่อการหดตัวสูงสุดคงที่แล้ว ทำการหยด ACh ความเข้มข้นตั้งแต่ 10^{-7}-10^{-3} M แล้วนำไปคำนวณเปอร์เซ็นต์การคลายตัวของหลอดเลือด thoracic aorta ต่อ ACh ซึ่งจะบอกถึงการทำงานของ endothelial cell ของหลอดเลือด เนื่องจากกลไกการทำงานของ Acetylcholine ผ่านการกระตุ้นการหลั่ง nitric oxide จาก endothelial cell ของหลอดเลือด

จุดประสงค์ที่ 2 :- เพื่อศึกษาผลของสารสกัดสาหร่ายเตาต่อการต้านอนุมูลอิสระในกล้ามเนื้อหัวใจในภาวะปกติและภาวะเบาหวานชนิดที่ 2 ที่มีภาวะแทรกซ้อนของหัวใจและหลอดเลือดในระยะแรก

ทำการวัดการกระตุ้น PKC และ NF-kappaB ในหลอดเลือดโดยวิธี western blot analysis

โดยนำหลอดเลือดแดงใหญ่มาบดแล้วปั่นแบบหมุนเหวี่ยง เมื่อได้ส่วนของโปรตีนแล้วนำมาหาปริมาณโปรตีน ก่อนทำการแยกโปรตีนที่ถูกกระตุ้นจากการเพิ่มขึ้นของ อนุมูลอิสระในหลอดเลือด โดยใช้ primary antibody ต่อ PKC และ NF-kappaB

กิจกรรมที่ 4 : การศึกษาฤทธิ์ในการป้องกันและต้านสารอนุมูลอิสระของสารสกัดสาหร่ายเตาต่อการขนส่งสารที่ท่อไตในหนูขาวที่มีภาวะเบาหวานชนิดที่ 2

จุดประสงค์ที่ 1 :- เพื่อศึกษาผลของสาหร่ายเตาต่อสัณฐานจุลทรรศน์วิทยาของเนื้อเยื่อไตในภาวะปกติและภาวะเบาหวานชนิดที่ 2 ที่มีภาวะแทรกซ้อนทางไตในระยะแรก

ทำการตัดแยกไตทันทีหลังจากทำการการุณฆาตแล้ว เนื้อเยื่อไตหนึ่งส่วนหนึ่งจะถูกนำไปแช่ในน้ำยา 10% Neutral formalin เป็นเวลา 12-24 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำตัวอย่างเนื้อเยื่อไตผ่านขบวนการเตรียมเนื้อเยื่อเพื่อฝังเทียน โดยเนื้อเยื่อไตจะถูกดึงของเหลวในเซลล์ออกด้วยแอลกอฮอล์จากความเข้มข้นต่ำไปยังความเข้มข้นสูง (70% ethanol -100% absolute ethanol) เป็นเวลา 1 ชั่วโมงต่อครั้ง หลังจากนั้นทำให้เนื้อเยื่อใสได้โดยผ่านสารละลาย toluene ซึ่งเป็นตัวกลางให้เทียนพาราฟินสามารถซึมเข้าในเนื้อเยื่อเป็นเวลา 1 ชั่วโมง จำนวน 2 ครั้ง และเมื่อนำเนื้อเยื่อฝังลงในเทียนพาราฟิน แล้วจึงนำไปตัดที่ความหนาประมาณ 5-7 ไมโครเมตร และนำไปย้อมด้วยสีย้อม Hematoxyline และ Eosin (H&E) เพื่อศึกษาเปรียบเทียบในแต่ละกลุ่ม ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบธรรมดา (bright field microscope)

จุดประสงค์ที่ 2 :- เพื่อศึกษาผลของสารสกัดสาหร่ายเตาในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระในไตในภาวะปกติและภาวะเบาหวานชนิดที่ 2 ที่มีภาวะแทรกซ้อนทางไตในระยะแรก

ทำการ slice ส่วนเนื้อเยื่อไตชั้นนอกของไตหนูแต่ละกลุ่ม และนำมาทำการปั่นแยกให้ได้ส่วนของเซลล์ทั้งหมด และใช้ชุดน้ำยาสำเร็จรูปตรวจหาระดับ Malondialdehyde (MDA) เพื่อบอกถึงภาวะ Lipid peroxidation ในเนื้อเยื่อไตชั้นนอก

จุดประสงค์ที่ 3 :- เพื่อศึกษาผลของสารสกัดสาหร่ายเตาต่อการวัดการทำงานและการแสดงออกของยีนสำหรับโปรตีนขนส่งสารอินทรีย์ประจุลบที่อยู่บนผนังเซลล์ของท่อไตในภาวะปกติและภาวะเบาหวานชนิดที่ 2 ที่มีภาวะแทรกซ้อนทางไตในระยะแรก

ใช้เครื่อง microtome ค่อยๆ slice ตามขวางในส่วนเนื้อเยื่อไตส่วนนอก ให้มีความหนาประมาณ 0.5 mm จากนั้น Renal slices ของหนูขาวในแต่ละกลุ่มการทดลอง จะถูก incubate ด้วยสารรังสีที่จำเพาะต่อการทำงานของโปรตีนขนส่งสารอินทรีย์ประจุลบชนิดที่ 3 เนื่องจากเป็นโปรตีนที่มีการแสดงออกสูงสุดในกลุ่มโปรตีนขนส่งสารอินทรีย์ประจุลบทั้งหมด ได้แก่ estrone sulfate (ES) เป็นเวลา 30 นาที และทำการวัดปริมาณสารรังสีที่สะสมอยู่ในเนื้อเยื่อไต (Radioactive transport measurement)

จุดประสงค์ที่ 4 :- เพื่อศึกษาผลของสารสกัดสาหร่ายเตาต่อการวัดการทำงานของโปรตีนขนส่งสารอินทรีย์ประจุลบที่อยู่บนผนังเซลล์ของท่อไตในสภาวะที่ถูกกระตุ้นด้วย Insulin ผ่านทางการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของ insulin ของท่อไตในภาวะปกติและภาวะเบาหวานชนิดที่ 2 ที่มีภาวะแทรกซ้อนทางไตในระยะแรก

จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่า การใช้ insulin หรือ epidermal growth factor (EGF) สามารถกระตุ้นการส่งสัญญาณภายในเซลล์และเพิ่มการทำงานของโปรตีนขนส่งสารอินทรีย์ประจุลบชนิดที่ 1 และ 3 ได้ [39-41] ซึ่งสามารถทำได้โดยการ pre-incubate เนื้อเยื่อไตส่วนนอก ของหนูขาวในแต่ละกลุ่มการทดลองด้วย 30 ug/ml Insulin เป็นเวลา 30 นาที แล้วจึง incubate อีกครั้งหนึ่ง ด้วยสารรังสี para-aminohippurate (PAH) (จำเพาะต่อโปรตีนขนส่งสารอินทรีย์ประจุลบทั้งชนิดที่ 1 และ 3) เป็นเวลา 30 นาที และทำการวัดปริมาณสารรังสีที่สะสมอยู่ในเนื้อเยื่อไต (Radioactive transport measurement)

จุดประสงค์ที่ 5 :- เพื่อศึกษาผลของสารสกัดสาหร่ายเตาต่อการแสดงออกในระดับยีนสำหรับเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับภาวะ Oxidative stress ในไตในภาวะปกติและภาวะเบาหวานชนิดที่ 2 ที่มีภาวะแทรกซ้อนทางไตในระยะแรก

นำส่วนเนื้อเยื่อไตชั้นนอกของไตมาสกัดแยก RNA และทำการวัดระดับการแสดงออกของยีน โดยเทคนิค quantitative reverse transcriptase polymerase chain reaction (qRT-PCR)

จุดประสงค์ที่ 6 :- เพื่อศึกษาผลของสารสกัดสาหร่ายเตาต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณการแสดงออกของโปรตีนตัวกลางอื่นๆ ที่เกี่ยวข้องกับการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของ insulin และส่งผลต่อการทำงานของโปรตีนขนส่งสารอินทรีย์ประจุลบที่อยู่บนผนังเซลล์ของท่อไต

นำเนื้อเยื่อไตส่วนนอกของไตปั่นแยกให้ได้ส่วนของเซลล์ทั้งหมด (cell lysate) ผนังเซลล์ (membrane) และ ของเหลวภายในเซลล์ (cytosol) และนำมาวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนทั้งหมด จากนั้นใช้เทคนิค Western blot analysis ในการหาปริมาณโปรตีนตัวกลางอื่นๆที่สนใจ โดยใช้ primary antibody ที่จำเพาะต่อโปรตีนตัวกลางนั้นๆ คือ Non-phosphorylated protein kinase C zeta (PKCζ) และ phosphorylated protein kinase C alpha (p-PKCα)

การวิเคราะห์ทางสถิติ

นำผลการทดลองที่ได้ทั้งหมดมาวิเคราะห์ผลทางสถิติ โดยจะแสดงในรูป mean ± SEM ข้อมูล จะถูกเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มทดลอง โดยใช้สถิติ analysis of variance (ANOVA) ตามด้วย Fisher post hoc test ค่า $p < 0.05$ ถือว่ามีระดับ นัยสำคัญทางสถิติ โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS

บทที่ 3
ผลการทดลอง อภิปรายและวิจารณ์ผล

<u>การวิจัยทางพฤกษเคมี</u>

สาหร่ายที่นำมาทดสอบคือ *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützing โดยได้ทำการพิสูจน์เอกลักษณ์จาก รองศาสตราจารย์ ดร.ยุวดี พีรพรพิศาล หัวหน้าห้องปฏิบัติการวิจัยสาหร่ายประยุกต์ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ภาพของสาหร่ายเตาที่ใช้ในการศึกษาดังแสดงใน **รูปที่ 4**

รูปที่ 4 ภาพแสดงสาหร่ายเตา (*Spirogyra neglecta)*

จากการเตรียมสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่ายเตาโดยการต้มสาหร่ายเตาแห้งในน้ำร้อนเป็นเวลา 3 ชม. พบว่า สาหร่ายเตาแห้ง 100 กรัม ทำเป็นสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่ายเตาได้ 32.33 กรัม (yield ของสารสกัดน้ำของสาหร่ายเตาเท่ากับ 32.33%) โดยสาหร่ายเตาแห้ง 100 กรัม ได้มาจากสาหร่ายเตาสดประมาณ 1 กก. จากนั้นทำการตรวจปริมาณโพลีฟีนอลในสารสกัดด้วยน้ำสาหร่ายเตาในฤดูร้อน ฝน และหนาวพบว่า สารสกัดของสาหร่ายเตา 1 กรัมมีปริมาณโพลีฟีนอลเมื่อเทียบกับ gallic acid มีค่า 78-100 มก. GAE (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ปริมาณโพลีฟีนอลของสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่ายเตา

ฤดูเก็บเกี่ยว	**ปริมาณโพลีฟีนอล (mgGAE/g extract)**
ฤดูร้อน (ก.พ.-พ.ค.)	77.66 ± 3.56
ฤดูฝน (มิ.ย.-ก.ย.)	84.41 ± 0.42
ฤดูหนาว (ต.ค.-ม.ค.)	92.95 ± 0.10

mgGAE/g extract หมายถึง สารสกัดด้วยน้ำของสาหร่ายเตา 1 กรัมมีปริมาณโพลีฟีนอลเมื่อเทียบกับปริมาณ gallic acid เป็นมิลลิกรัม

โดยพบปริมาณโพลีฟีนอลเรียงลำดับจากมากไปน้อยในฤดูหนาว ฝน และร้อน ซึ่งทั้ง 3 ฤดูกาลมีค่ามากกว่าเกณฑ์ที่กำหนดไว้คือ ไม่ต่ำกว่า 40 มก. GAE สำหรับการทดสอบฤทธิ์ชีวภาพในสัตว์ทดลองจะใช้สาหร่ายเตาที่เก็บเกี่ยวในช่วงฤดูร้อนทั้งหมดตลอดการทดลอง เนื่องจากช่วงระยะเวลาในการเก็บรวบรวมและเตรียมสารสกัดอยู่ในช่วงฤดูร้อน

ตารางที่ 2 แสดงปริมาณ % yield, carbohydrate และ sulfate content จากการสกัดลำดับส่วนของสาหร่ายเตา พบว่า fraction 3 (F3) ส่วนสกัดเมทานอล มีปริมาณ yield มากที่สุด รองลงมาคือ fraction 5 (F5) ส่วนสกัดน้ำร้อน โดยมีปริมาณ yield ในฤดูร้อน ฝน และหนาวเป็น 19-23% ในส่วนสกัดเมทานอล (F3) และ 12-15% ในส่วนสกัดน้ำร้อน (F5) สารที่พบในสาหร่ายเตาส่วนใหญ่เป็น carbohydrate โดยพบในส่วนสกัดน้ำเย็น 25°C (F4) มีปริมาณ 31-50% ในขณะที่ส่วนสกัดน้ำร้อน 100°C (F5) พบปริมาณ carbohydrate เท่ากับ 34-39% ส่วนปริมาณ sulfate content ใน F4 และ F5 พบในปริมาณ 1-15% นอกจากนี้ยังพบปริมาณโพลีฟีนอลของส่วนสกัดแบบลำดับส่วนของ F3 และ F5 มากที่สุดโดยเฉพาะในฤดูร้อนมีค่าถึง 173-180 mgGAE/g extract (ตารางที่ 3)

จากตารางที่ 3 แสดงความสามารถในการขจัดอนุมูลอิสระในหลอดทดลองพบว่า ส่วนสกัด F3 และ F5 มีฤทธิ์ดีที่สุด โดยมีค่า TEAC เท่ากับ 495.81 และ 431.28 ใน F3 และ F5 ตามลำดับ โดยความสามารถในการขจัดอนุมูลอิสระมีความสัมพันธ์กับปริมาณสารกลุ่มโพลีฟีนอลที่พบในปริมาณมาก (ตารางที่ 3 และ 4) ดังนั้น F3 และ F5 จึงมีความเป็นไปได้ในการนำไปทดสอบฤทธิ์ชีวภาพเชิงลึกต่อไป โดยกลุ่มสารสำคัญที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพของ F3 เป็นสารกลุ่มโพลีฟีนอล (polyphenol) เป็นหลัก และมีปริมาณ yield มากที่สุด ส่วน F5 เป็นสารกลุ่มโพลีแซคคาร์ไรด์ (polysaccharide) และโพลีฟีนอลที่ไม่สามารถแยกออกจากโพลีแซคคาร์ไรด์ได้เป็นพวก complex structure อย่างไรก็ตามวิธีการสกัดด้วยการต้มในน้ำร้อน 3 ชม. ที่เลือกใช้ในงานวิจัยนี้เป็นตัวทำละลายในการสกัดสารสำคัญที่มีความเหมาะสมเนื่องจากสะดวกและง่ายต่อการเตรียมสารสกัด ไม่มีการปนเปื้อนของตัวทำละลายอินทรีย์ อีกทั้งมีปริมาณสารกลุ่มโพลีฟีนอลที่พบในปริมาณมากเช่นเดียวกับการสกัดแบบลำดับส่วนที่มีขั้นตอนในการเตรียมสารสกัดยุ่งยากกว่า อีกทั้งมีการสารเคมีหลายชนิด

คำแนะนำจากผู้ทรงคุณวุฒิ

1. ควรเปรียบเทียบการทำสารสกัดให้แห้งด้วย spray dry กับ freeze dry ว่าได้สารที่มีคุณสมบัติแตกต่างกันหรือไม่

การเตรียมสารสกัดสาหร่ายเตาตากแห้งมาต้มน้ำเดือด 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง แล้วนำไป freeze dry พบว่ามีฤทธิ์ลดระดับน้ำตาลในเลือด แสดงว่าสารสำคัญที่มีฤทธิ์ชีวภาพสามารถทนความร้อนได้มากกว่า 100 องศาเซลเซียส แต่ในกรณีของ spray dry ซึ่งมีการใช้อุณหภูมิประมาณ 150-200 องศาเซลเซียส อาจจะให้ผลเหมือนหรือแตกต่างกันก็ได้ ขึ้นกับว่าสารสำคัญดังกล่าวจะสามารถทนความร้อนได้สูงแค่ไหน เมื่อได้รับอุณหภูมิสูงมากๆ แต่เนื่องจากเครื่อง spray dryer เป็นเครื่องใหญ่ที่ต้องใช้ตัวอย่างไม่

น้อยกว่า 10 ลิตรในการเดินเครื่อง และจะได้ yield น้อยมาก เพราะจะสูญเสียสารสกัดไปกับผนังเครื่องเป็นส่วนใหญ่ ดังนั้นคณะผู้วิจัยยังมีข้อจำกัดในเรื่องงบประมาณในการเตรียมสารสกัดด้วยวิธี spray dry จึงวางแผนจะดำเนินการเปรียบเทียบคุณสมบัติของสารสกัดจากการทำให้แห้งด้วย spray dry กับ freeze dry ในการศึกษาครั้งต่อไป

2. การทดสอบการเกิดพิษทั้งแบบเฉียบพลันและเรื้อรังของสาหร่ายเตา

การทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันโดยให้สารสกัดด้วยน้ำของสาหร่ายเตาในขนาด 5000 mg/kg body weight ด้วยการป้อนทางปาก ไม่พบอาการผิดปกติของหนูภายใน 24 ชั่วโมง และตลอด 14 วัน หลังการให้สารสกัดน้ำสาหร่ายเตา นอกจากนี้ยังตรวจไม่พบอาการผิดปกติของพยาธิสภาพของอวัยวะต่างๆ ภายในร่างกายหนูขาวอีกด้วย [30] อย่างไรก็ตามการทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันของเป็นการให้สารทดสอบเพียงครั้งเดียวในขนาดสูง ควรทำการศึกษาพิษเรื้อรัง (chronic toxicity) ต่อไป ซึ่งเป็นแผนงานที่จะทำในการวิจัยครั้งต่อไป เนื่องจากต้องการข้อมูลฤทธิ์ทางชีวภาพเพื่อประเมินศักยภาพของสารทดสอบก่อน เพราะในการศึกษาพิษเรื้อรังต้องใช้สัตว์ทดลองจำนวนมาก ขนาดของสารทดสอบอย่างน้อย 3 ขนาด และต้องป้อนสารทดสอบทุกวัน ซึ่งต้องใช้เวลาในการเตรียมสารทดสอบจำนวนมาก เวลาที่ใช้ในการทดลอง 1-3 เดือน (ขึ้นอยู่กับวิธีการที่เลือกหรืออ้างอิง) หลังการทดสอบต้องเก็บเลือดเพื่อตรวจทางเคมีคลินิกด้วยการวัดปริมาณ glucose, electrolytes, BUN, creatinine, AST, ALT, alkaline phosphatase, total protein และ albumin ตรวจทางโลหิตวิทยาด้วยการวัดปริมาณ white blood cells, differential leukocyte counts, hematocrit และ hemoglobin ตรวจความผิดปกติของเนื้อเยื่อ (histology) นอกจากนี้ยังต้องมีการศึกษาผลต่อระบบสืบพันธุ์ (reproductive system) การเกิดผิดปกติของลูกในครรภ์ (teratogenicity) และลูกในรุ่นต่อไป (future generations) มีการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของยีน (mutagenicity) เป็นต้น โดยการศึกษาพิษเรื้อรังต้องใช้ค่าใช้จ่ายจำนวนมาก

อย่างไรก็ตามในการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพในครั้งนี้ได้ทำการให้สารกัดด้วยน้ำของสาหร่ายเตาเป็นเวลา 12 สัปดาห์ หรือ 3 เดือน ซึ่งเป็นการให้สารทดสอบที่ใช้เวลานานเท่ากับการทำการศึกษาพิษเรื้อรัง

3. การทำ Long term stability

ได้เตรียมวางแผนในการทำวิจัยในครั้งต่อไป

ตารางที่ 2 ปริมาณ % yield, carbohydrate และ sulfate content จากการสกัดลำดับส่วนของสาหร่ายเตา

Fraction	% yield			% carbohydrate			% sulfate content		
	ฤดูร้อน (ก.พ.-พ.ค.)	**ฤดูฝน** (มิ.ย.-ก.ย.)	**ฤดูหนาว** (ต.ค.-ม.ค.)	**ฤดูร้อน** (ก.พ.-พ.ค.)	**ฤดูฝน** (มิ.ย.-ก.ย.)	**ฤดูหนาว** (ต.ค.-ม.ค.)	**ฤดูร้อน** (ก.พ.-พ.ค.)	**ฤดูฝน** (มิ.ย.-ก.ย.)	**ฤดูหนาว** (ต.ค.-ม.ค.)
Hexane: F1	1.64	2.26	1.10	-	-	-	-	-	-
Acetone: F2	3.88	2.41	1.30	-	-	-	-	-	-
MeOH: F3	22.96	21.11	18.87	-	-	-	-	-	-
CW (25^{o}C): F4	6.29	4.03	6.20	50.07 ± 1.40	30.84 ± 1.40	35.76 ± 1.01	1.78 ± 0.08	14.70 ± 0.64	7.90 ± 0.82
HW (100^{o}C): F5	12.95	11.62	15.43	33.94 ± 1.46	38.86 ± 4.66	38.57 ± 1.35	1.08 ± 0.01	0.94 ± 0.02	1.05 ± 0.04

ปริมาณ carbohydrate และ sulfate content วิเคราะห์เฉพาะ CW และ HW

ตารางที่ 3 ปริมาณโพลีฟีนอลของส่วนสกัดแบบลำดับส่วน

Fraction	ปริมาณโพลีฟีนอล (mgGAE/g extract)			ปริมาณโพลีฟีนอล (mgGAE/g dw)		
	ฤดูร้อน (ก.พ.-พ.ค.)	ฤดูฝน (มิ.ย.-ก.ย.)	ฤดูหนาว (ต.ค.-ม.ค.)	ฤดูร้อน (ก.พ.-พ.ค.)	ฤดูฝน (มิ.ย.-ก.ย.)	ฤดูหนาว (ต.ค.-ม.ค.)
Hexane: F1	121.82 ± 2.50	168.92 ± 19.66	76.17 ± 3.33	4.16 ± 0.32	4.78 ± 0.56	1.04 ± 0.04
Acetone: F2	76.39 ± 2.88	224.15 ± 27.25	164.38 ± 3.71	3.71 ± 0.12	6.75 ± 0.82	5.89 ± 0.13
MeOH: F3	172.91 ± 9.95	56.34 ± 1.66	40.30 ± 0.77	39.60 ± 2.28	14.87 ± 0.44	9.51 ± 0.18
CW (25^{o}C): F4	18.07 ± 2.19	27.51 ± 0.85	29.75 ± 0.38	1.67 ± 0.20	1.38 ± 0.04	2.30 ± 0.03
HW (100^{o}C): F5	179.84 ± 3.14	115.06 ± 1.77	156.32 ± 1.44	34.18 ± 0.59	10.45 ± 0.16	23.07 ± 0.21

mgGAE/g extract หมายถึง สารสกัดสาหร่ายเตา 1 กรัมมีปริมาณโพลีฟีนอลเมื่อเทียบกับปริมาณ gallic acid เป็นมิลลิกรัม

mgGAE/g dw หมายถึง สาหร่ายเตาแห้ง 1 กรัมมีปริมาณโพลีฟีนอลเมื่อเทียบกับปริมาณ gallic acid เป็นมิลลิกรัม

ตารางที่ 4 ฤทธิ์ขจัดอนุมูล $ABTS^{+\bullet}$

Fraction	**TEAC** (mM Trolox/gram of sample)
Hexane: F1	66.05 ± 4.27
Acetone: F2	389.07 ± 16.03
MeOH: F3	495.81 ± 13.85
CW (25°C): F4	33.06 ± 1.50
HW (100°C): F5	431.28 ± 16.06

TEAC: Trolox equivalent antioxidant capacity

<u>การวิจัยการทดสอบฤทธิ์ชีวภาพในสัตว์ทดลอง</u>

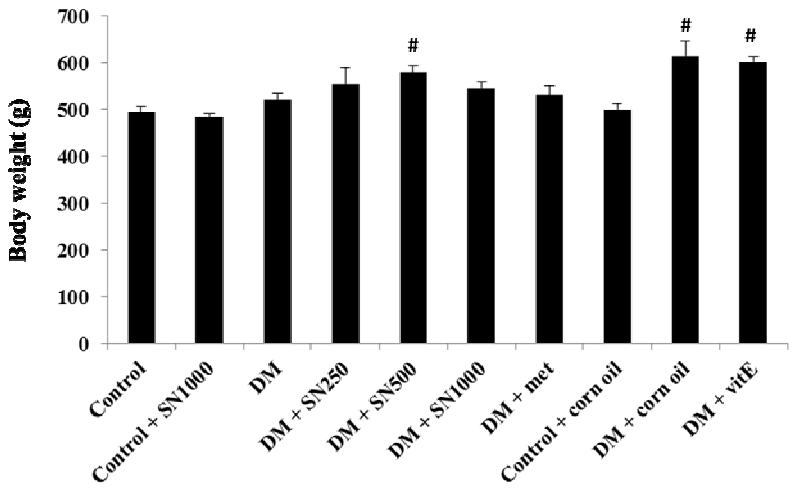
กิจกรรมที่ 2 :- การศึกษาผลของสาหร่ายเตาในการลดระดับสารเคมี (กลูโคส ฮอร์โมนอินซูลิน และไขมัน) ในเลือด และ insulin signaling ในกล้ามเนื้อลายของสาหร่ายเตาในหนูขาวที่มีภาวะเบาหวานชนิดที่ 2

*ผลของสารสกัดของสาหร่ายเตา (SN) ต่อน้ำหนักตัวและ*ไขมันในช่องท้อง *(visceral fat)*

การให้สารสกัดสาหร่ายเตาขนาด 1000 mg/kg BW เป็นเวลา 12 สัปดาห์นั้น ไม่มีผลต่อน้ำหนักตัว (495.0$\pm$11.90 และ 485.00$\pm$7.92 กรัม) แต่มีแนวโน้มที่จะลด visceral fat (34.23$\pm$2.64 และ 29.16$\pm$1.61 กรัม) ในหนูขาวปกติ แต่อย่างไรก็ตามไม่พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างกลุ่มหนูขาวปกติควบคุมและกลุ่มหนูขาวปกติที่ได้รับสารสกัดสาหร่ายเตา ส่วนการให้น้ำมันข้าวโพดก็ไม่มีผลต่อน้ำหนักตัวและ visceral fat mass ในหนูขาวปกติเช่นเดียวกัน (รูปที่ 5 , 6 และ 7)

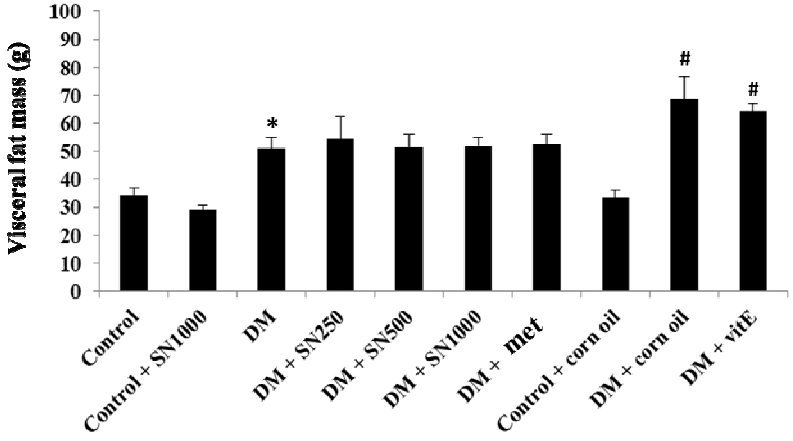
สำหรับหนูขาวที่มีภาวะเบาหวานชนิดที่ 2 นั้นเมื่อสิ้นสุดการทดลอง พบว่ามีน้ำหนักตัวเพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับค่า visceral fat ที่เพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับหนูขาวปกติควบคุม และเมื่อคำนวณค่า relative visceral fat mass พบว่าหนูขาวกลุ่มเบาหวานมีค่า relative visceral fat mass ที่มากกว่าหนูขาวปกติควบคุมอย่างมีนัยสำคัญซึ่งแสดงให้เห็นว่าหนูขาวกลุ่มเบาหวานมีภาวะอ้วน (obesity) เกิดขึ้น ส่วนการให้น้ำมันข้าวโพดในหนูขาวเบาหวานพบว่ายิ่งทำให้เกิดภาวะอ้วนเพิ่มมากขึ้น จากการที่มีน้ำหนักตัว visceral fat และค่า relative visceral fat mass ที่มากกว่าหนูขาวกลุ่มเบาหวานที่ไม่ได้รับการรักษาอย่างมีนัยสำคัญ

การให้สารสกัดสาหร่ายเตาในหนูขาวเบาหวานในขนาด 250, 500 และ 1000 mg/kg BW พบว่าไม่มีผลต่อน้ำหนักตัว การสะสมของvisceral fat และ relative visceral fat mass เมื่อเปรียบเทียบกับหนูขาวเบาหวานที่ไม่ได้รับการรักษา ผลดังกล่าวพบเช่นเดียวกับหนูขาวเบาหวานที่ได้รับยา metformin (DM+met) แสดงให้เห็นว่าการให้สารสกัดสาหร่ายเตาในหนูขาวเบาหวานไม่มีผลในการช่วยลดน้ำหนักตัวหรือลดการสะสมของ visceral fat mass สำหรับการให้วิตามินอี (vitE)ในหนูขาวเบาหวานนั้นยิ่งกลับทำให้มีภาวะอ้วนเพิ่มมากขึ้น ทั้งยังมี visceral fat mass และค่า relative visceral fat mass ที่มากกว่าหนูขาวกลุ่มเบาหวานอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งทั้งนี้อาจเป็นผลของน้ำมันข้าวโพดที่ใช้เป็นตัวทำละลาย (vehicle) ของวิตามินอี หรืออาจจะเกิดจากภาวะเครียด จากการได้รับสารที่มิใช่อาหารปกติ (feeding stress) เข้าสู่ร่างกาย ซึ่งคณะผู้วิจัยจะทำการศึกษาในโอกาสต่อไป



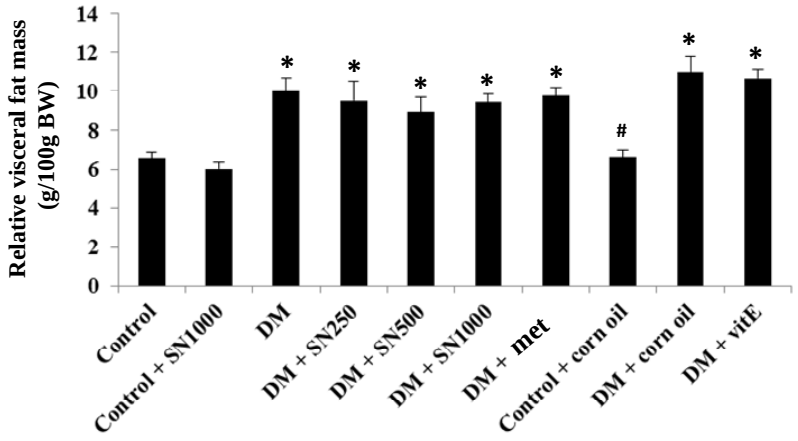
รูปที่ 5 ผลของสารสกัดของสาหร่ายเตาต่อน้ำหนักตัวหนูขาวปกติเทียบกับหนูขาวที่มีภาวะเบาหวานชนิดที่ 2 ที่ได้รับและไม่ได้รับสารสกัดสาหร่ายเตาในขนาดต่างๆ

* $P < 0.05$ vs. control ; # $P < 0.05$ vs.



รูปที่ 6 ผลของสารสกัดของสาหร่ายเตาต่อ visceral fat ของหนูขาวปกติเทียบกับหนูขาวที่มีภาวะเบาหวานชนิดที่ 2 ที่ได้รับและไม่ได้รับสารสกัดสาหร่ายเตาในขนาดต่างๆ

* $P < 0.05$ vs. control ; # $P < 0.05$ vs. DM

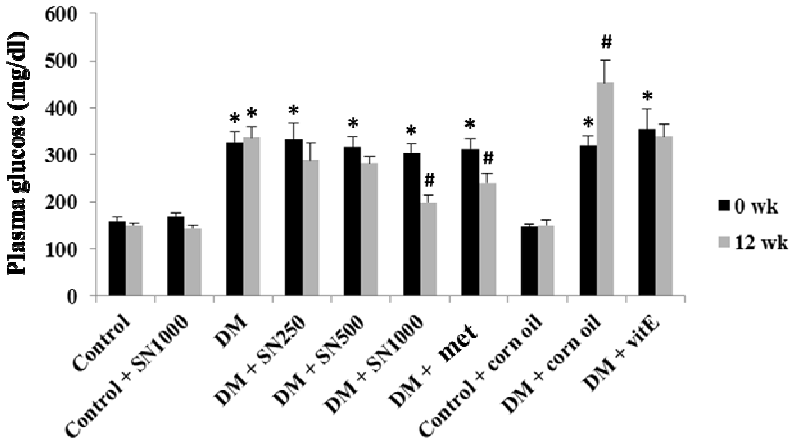


รูปที่ 7 ผลของสารสกัดของสาหร่ายเตา (SN) ต่อ relative visceral fat mass ของหนูขาวปกติเทียบกับหนูขาวที่มีภาวะเบาหวานชนิดที่ 2 ที่ได้รับและไม่ได้รับสารสกัดสาหร่ายเตาในขนาดต่างๆ * $P < 0.05$ vs. control ; # $P < 0.05$ vs. DM

ผลของสารสกัดสาหร่ายเตา (SN) ในการลดระดับน้ำตาลกลูโคส (glucose) ในเลือด

การให้สารสกัดของสาหร่ายเตาต่อเนื่องในระยะยาวเป็นเวลา 12 สัปดาห์นั้นไม่มีผลกระทบต่อระดับ glucose ในเลือดของหนูขาวปกติ แม้ว่าจะให้สารสกัดของสาหร่ายเตาในขนาดสูง 1000 mg/kg/day ก็ตาม (รูปที่ 8) แสดงให้เห็นถึงความปลอดภัยในการบริโภคสารสกัดของสาหร่ายเตาในคนปกติ เพราะไม่มีฤทธิ์ให้เกิดภาวะน้ำตาลในเลือดต่ำ (hypoglycemic effect) ส่วนการให้วิตามินอีในหนูขาวปกตินั้นก็ไม่มีผลต่อระดับ glucoseในเลือดเช่นกัน

สำหรับในหนูขาวที่มีภาวะเบาหวานชนิดที่ 2 นั้นเมื่อได้รับสารสกัดของสาหร่ายเตาในขนาดต่างๆ (250 mg/kg BW, 500 mg/kg BW และ 1000 mg/kg BW) จนกระทั่งสิ้นสุดการทดลองในสัปดาห์ที่ 12 จะเห็นว่าระดับglucoseในเลือดลดต่ำลงอย่างมีนัยสำคัญในกลุ่มที่ได้รับสารสกัดในขนาดสูง 1000 mg/kg BW/day (ลดลง 35 %) เมื่อเปรียบเทียบกับหนูขาวที่มีภาวะเบาหวานควบคุมซึ่งไม่ได้รับการรักษา ซึ่งลักษณะผลดังกล่าวจะพบได้เช่นเดียวกับหนูขาวเบาหวานที่ได้รับยา metformin (ลดลง 24%) แสดงให้เห็นว่าสารสกัดของสาหร่ายเตาในขนาด 1000 mg/kg BW มีฤทธิ์ในการลดระดับ glucose ในเลือด (antihyperglycemic effect) และมีประสิทธิภาพเช่นเดียวกับยา metformin ซึ่งใช้เป็น positive drug ในการศึกษานี้ แต่อย่างไรก็ตามผลการศึกษาที่พบว่าสารสกัดสาหร่ายเตาสามารถลดระดับ glucose ได้มากกว่ายา metformin นั้นอาจเนื่องจากปริมาณของสารที่ใช้ทดสอบไม่เท่ากัน ส่วนในหนูขาวที่มีภาวะเบาหวานที่ได้รับวิตามินอีนั้นไม่พบผลในการลดระดับ glucoseในเลือด แสดงว่าการการให้เฉพาะสารที่มีคุณสมบัติ antioxidant เพียงอย่างเดียวไม่สามารถช่วยควบคุมระดับ glucoseในเลือดได้

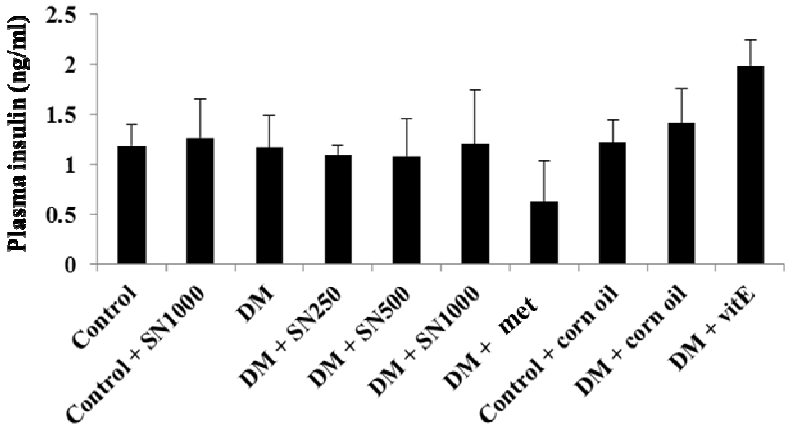


รูปที่ 8 ผลของสารสกัดของสาหร่ายเตา (SN) ต่อระดับ glucoseในเลือดก่อนและสิ้นสุดการทดลองของหนูขาวปกติเทียบกับหนูขาวที่มีภาวะเบาหวานชนิดที่ 2 ที่ได้รับและไม่ได้รับสารสกัดสาหร่ายเตา ในขนาดต่างๆ * $P < 0.05$ vs. control ; # $P < 0.05$ vs. DM

จากการศึกษาเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงระดับ glucose ในเลือดทั้งก่อนและหลังให้สารทดสอบต่างๆ ยังได้ข้อสังเกตว่าในหนูขาวที่มีภาวะเบาหวานที่ได้รับน้ำมันข้าวโพดนั้นกลับมีระดับ glucose ในเลือดที่เพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ (20%) แสดงให้เห็นว่าการให้ไขมันจากน้ำมันข้าวโพดในหนูเบาหวานจะกลับไปเพิ่มระดับความรุนแรงของภาวะน้ำตาลในเลือดสูง (Hyperglycemia) ยิ่งขึ้น

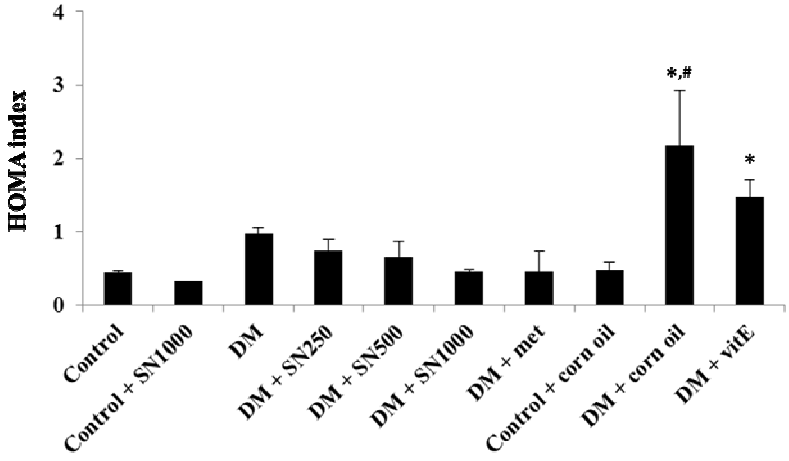
รูปที่ 9 แสดงการเปลี่ยนแปลงระดับของระดับฮอร์โมนอินซูลิน (insulin) ในเลือด พบว่าไม่มีความแตกต่างระหว่างกลุ่มสัตว์ทดลอง ซึ่งในหนูขาวที่มีภาวะเบาหวานนั้นระดับ insulin ในเลือดที่ไม่ลดลงแสดงให้เห็นว่าตับอ่อนยังสามารถสร้างและหลั่ง insulin ได้อยู่ เป็นการยืนยัน animal model ที่ใช้ในการศึกษานี้ได้ว่าการให้อาหารไขมันสูงร่วมกับการฉีด streptozotocin ในขนาด 35 mg/kg BW สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะเบาหวานชนิดที่ 2 ได้จริง และเมื่อพิจารณาร่วมกับค่า HOMA index (รูปที่ 10) ซึ่งแสดงถึงพยาธิสภาพภาวะดื้อต่อ insulin จะพบว่าในหนูขาวเบาหวานมีค่า HOMA index ที่เพิ่มขึ้นกว่าหนูขาวปกติถึง 113% บ่งชี้ว่ามีภาวะดื้อต่อ insulin เกิดขึ้น

สำหรับการให้สารสกัดสาหร่ายเตาและยา metformin นั้นถึงแม้จะไม่มีในการกระตุ้นการหลั่ง insulin จากตับอ่อนอย่างมีนัยสำคัญ (รูปที่ 9) แต่จากการที่พบว่าสามารถช่วยควบคุมระดับ glucose ในเลือดได้ดี แสดงให้เห็นผลในการเพิ่ม insulin sensitivity ซึ่งสอดคล้องกับค่า HOMA index ที่ลดต่ำลง (รูปที่ 10) ส่วนการให้วิตามินอีในหนูเบาหวานนั้นกลับมีผลเพิ่มระดับ insulin และเพิ่ม HOMA index อย่างมีนัยสำคัญ แสดงให้เห็นว่ามีพยาธิสภาพของโรคที่รุนแรงมากขึ้น ซึ่งคณะผู้วิจัยจะทำการศึกษาเพิ่มในโอกาสต่อไป



รูปที่ 9 ผลของสารสกัดของสาหร่ายเตาต่อระดับ insulin ในเลือดของหนูขาวปกติเทียบกับหนูขาวที่มีภาวะเบาหวานชนิดที่ 2 ที่ได้รับและไม่ได้รับสารสกัดสาหร่ายเตา ในขนาดต่างๆ

* $P < 0.05$ vs. control ; # $P < 0.05$ vs. DM



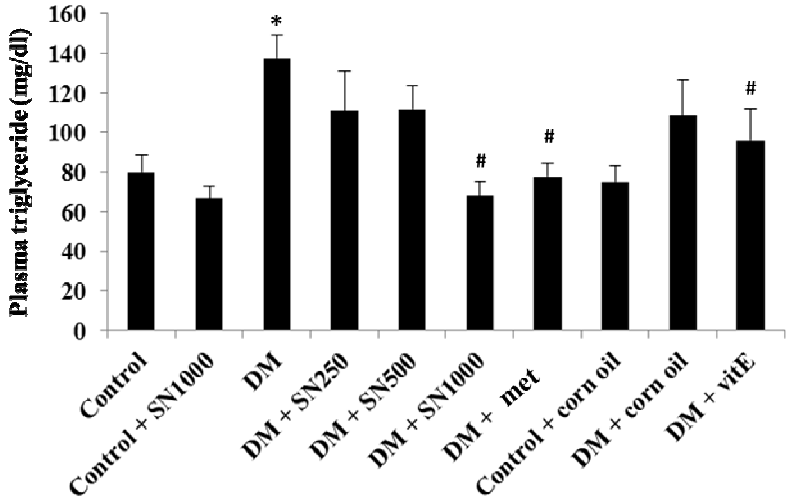
รูปที่ 10 ผลของสารสกัดของสาหร่ายเตาต่อค่า HOMA index ในเลือดของหนูขาวปกติเทียบกับหนูขาวที่มีภาวะเบาหวานชนิดที่ 2 ที่ได้รับและไม่ได้รับสารสกัดสาหร่ายเตาในขนาดต่างๆ * $P < 0.05$ vs. control ; # $P < 0.05$ vs. DM

ผลของสารสกัดสาหร่ายเตา (SN) ในการลดระดับไขมันในเลือด

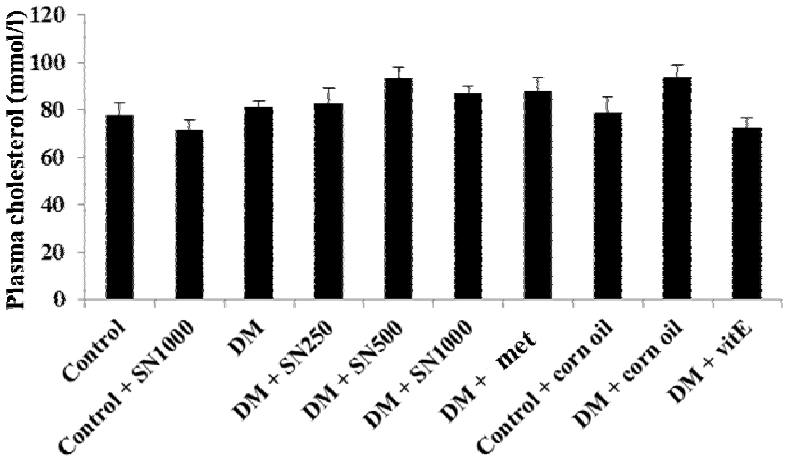
รูปที่ 11, 12, 13 และ14 แสดงการเปลี่ยนแปลงระดับของไขมันชนิดต่างๆในเลือด จะเห็นว่าในหนูขาวกลุ่มเบาหวานควบคุมเมื่อสิ้นสุดการทดลองจะมีระดับของ TG (+70%), cholesterol และ free fatty acids (+28%) ในเลือดสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับหนูขาวปกติควบคุมร่วมกับมีการลดลงของ high density lipoprotein-C (HDL-C) (-37%) ซึ่งบ่งชี้ว่ามีภาวะ dyslipidemia ในหนูขาวที่มีภาวะเบาหวานชนิดที่ 2 และการให้สารสกัดสาหร่ายเตาในขนาดต่างๆ (250 mg/kg BW,

500 mg/kg BW และ 1000 mg/kg BW) ในหนูขาวที่มีเบาหวานพบว่าสารสกัดสาหร่ายเตา โดยเฉพาะขนาด 1000 mg/kg BW มีผลช่วยลดระดับของ TG (-50%) และ free fatty acids (-22%) ในเลือด อีกทั้งยังสามารถเพิ่มระดับของ HDL-C (+24.5%) ในเลือดอย่างมีนัยสำคัญเช่นเดียวกับการให้ยา metformin (-44%, 2-8% และ+43% ตามลำดับ) แสดงให้เห็น hypolipidemic effect ของสารสกัดสาหร่ายเตา โดยขนาดที่มีประสิทธิผลดังกล่าวคือขนาด 1000 mg/kg BW/day

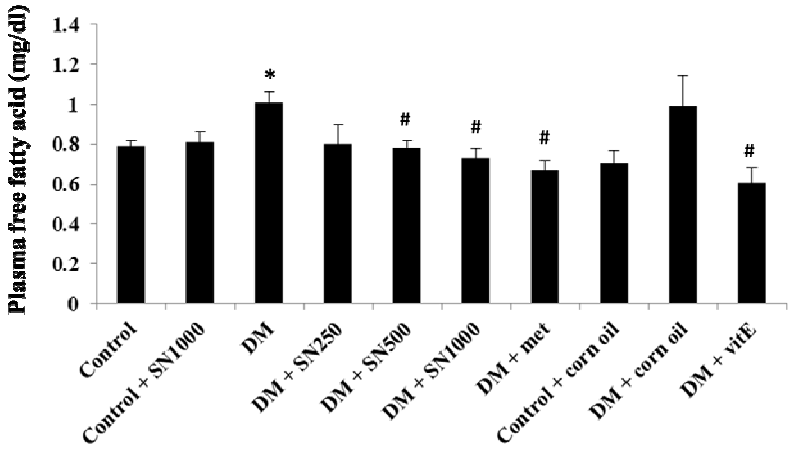
สำหรับการให้วิตามินอีในหนูขาวที่มีเบาหวานพบว่าวิตามินอีสามารถลดระดับของ TG (-30%) และ free fatty acids (-40%) แต่ไม่มีผลเพิ่มระดับของ HDL-C ในเลือด ส่วนการให้น้ำมันข้าวโพดในหนูที่มีภาวะเบาหวาน มีผลทำให้ภาวะ dyslipidemia ยิ่งแย่ลงซึ่งเห็นได้จากแนวโน้มการเพิ่มขึ้นของระดับ TG, cholesterol และ free fatty acids ในเลือดในขณะที่ระดับของ HDL-C มีค่าลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับหนูที่มีภาวะเบาหวานควบคุม



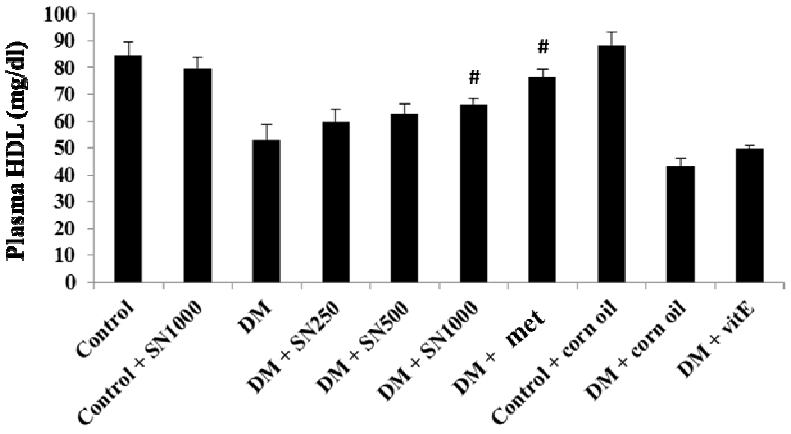
รูปที่ 11 ผลของสารสกัดของสาหร่ายเตาต่อระดับ triglyceride ในเลือดของหนูขาวปกติเทียบกับหนูขาวที่มีภาวะเบาหวานชนิดที่ 2 ที่ได้รับและไม่ได้รับสารสกัดน้ำสาหร่ายเตาในขนาดต่างๆ * $P < 0.05$ vs. control ; # $P < 0.05$ vs. DM



รูปที่ 12 ผลของสารสกัดของสาหร่ายเตาต่อระดับ cholesterol ในเลือดของหนูขาวปกติเทียบกับหนูขาวที่มีภาวะเบาหวานชนิดที่ 2 ที่ได้รับและไม่ได้รับสารสกัดสาหร่ายเตาในขนาดต่างๆ * $P < 0.05$ vs. control ; # $P < 0.05$ vs. DM



รูปที่ 13 ผลของสารสกัดของสาหร่ายเตาต่อระดับ free fatty acid ในเลือดของหนูขาวปกติเทียบกับหนูขาวที่มีภาวะเบาหวานชนิดที่ 2 ที่ได้รับและไม่ได้รับสารสกัดสาหร่ายเตาในขนาดต่างๆ * $P < 0.05$ vs. control ; # $P < 0.05$ vs. DM



รูปที่ 14 ผลของสารสกัดของสาหร่ายเตาต่อระดับ HDL-C ในเลือดของหนูขาวปกติเทียบกับหนูขาวที่มีภาวะเบาหวานชนิดที่ 2 ที่ได้รับและไม่ได้รับสารสกัดสาหร่ายเตาในขนาดต่างๆ

* $P < 0.05$ vs. control ; # $P < 0.05$ vs. DM

ผลของสารสกัดสาหร่ายเตา (SN) ต่อความทนทานต่อกลูโคส (glucose tolerance)

เพื่อศึกษาเกี่ยวกับภาวะดื้อต่ออินซูลิน (whole body insulin resistance) คณะผู้วิจัยจึงได้ทำการศึกษาความทนต่อกลูโคส เมื่อสิ้นสุดการทดลอง จากรูปที่ 15A แสดงการเปลี่ยนแปลงระดับ glucose ในเลือดจากการทดสอบความทนต่อกลูโคสของหนูขาวปกติและหนูขาวที่มีภาวะเบาหวานที่ได้รับสารสกัดสาหร่ายเตา จะเห็นว่าในหนูขาวปกติกลุ่มควบคุม หลังจากให้สารละลาย glucose (2 g/kg BW) พบว่าระดับ glucose ในเลือดจะเพิ่มสูงขึ้นในนาทีที่ 15 และ 30 แล้วจึงจะค่อยๆลดลงในนาทีที่ 60 และ 120 ตามลำดับ ในขณะที่หนูขาวปกติที่ได้รับสารสกัดของสาหร่ายเตาขนาด 1000 mg/kg BW นั้น การเปลี่ยนแปลงระดับ glucoseในเลือดเมื่อให้สารละลายกลูโคสไม่แตกต่างจากหนูขาวปกติกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ

สำหรับหนูขาวที่มีภาวะเบาหวาน เมื่อทดสอบความทนทานต่อกลูโคสแล้วพบว่าระดับการเปลี่ยนแปลงของ glucose ในเลือดเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับหนูขาวปกติตลอด 120 นาที แสดงว่ามีภาวะ impaired glucose tolerance เกิดขึ้นซึ่งสาเหตุอาจเนื่องมาจากภาวะดื้อต่ออินซูลิน (insulin resistance) หรือ impaired insulin secretion การให้สารสกัดของสาหร่ายเตาในขนาด 250 mg/kg BW, 500 mg/kg BW และ 1000 mg/kg BW มีผลช่วยลด glucose response ในหนูขาวเบาหวานชนิดที่ 2 ที่มีลักษณะเป็น dose dependent manner และพบว่าขนาดของสารสกัดสาหร่ายเตาที่สามารถลด glucose response ได้อย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับหนูขาวที่มีภาวะเบาหวานควบคุม (ไม่ได้รับการรักษา) คือ 1000 mg/kg BW สอดคล้องกับผลต่อพื้นที่ใต้กราฟของกลูโคส (area under the curve for glucose ; AUC for glucose) ที่มีผลลดทั้ง TAUC, BAUC และ IAUC (รูปที่ 15 A, B, และ C) ซึ่งข้อมูลจากการทดสอบนี้บ่งชี้ว่าสารสกัดสาหร่ายเตาขนาด

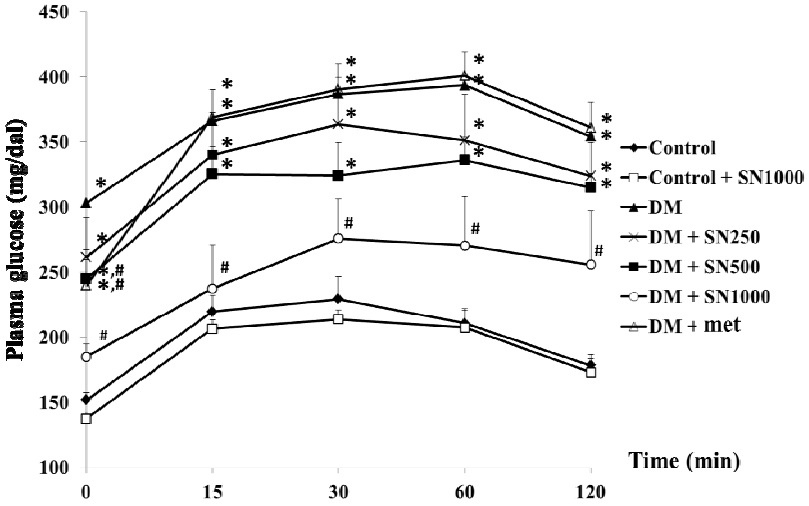
1000 mg/kg BW มีผลลดของความรุนแรงของภาวะ impaired glucose tolerance หรืออาจกล่าวได้ว่ามีการ improved glucose intolerance และเมื่อเปรียบเทียบผลการศึกษาในกลุ่มดังกล่าวนี้กับหนูขาวเบาหวานที่ได้รับยา metformin พบว่าการเปลี่ยนแปลงระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือดเมื่อให้สารละลายกลูโคสในหนูขาวเบาหวานที่ได้รับสารสกัดสาหร่ายเตาขนาด 1000 mg/kg BW มีค่าน้อยกว่า และในหนูขาวเบาหวานที่ได้รับยา metformin มีเฉพาะค่าระดับน้ำตาลกลูโคสในนาทีที่ 0 (basal plasma glucose level) เท่านั้นที่ต่ำกว่าหนูเบาหวานควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ แสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพของสารสกัดสาหร่ายเตาในการควบคุมระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือดที่ดีขึ้นจากการทดสอบความทนต่อกลูโคส ซึ่งกลไกนั้นอาจเกิดจากการเพิ่มความไวในการตอบสนองต่ออินซูลิน (insulin sensitivity) หรืออาจเกิดได้จากการหลั่ง insulinจากตับอ่อนเพิ่มขึ้น แต่ทั้งนี้จำเป็นต้องศึกษาเพิ่มเติมต่อไป ส่วนผลของยา metformin ที่มีผลลดเฉพาะค่าระดับน้ำตาลกลูโคสในนาทีที่ 0 นั้นอาจเนื่องมาจากขนาดของยาที่ใช้มีปริมาณที่น้อยไป

รูปที่ 15B แสดงการเปลี่ยนแปลงระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือดจากการทดสอบความทนต่อกลูโคส (glucose tolerance test) ของหนูขาวปกติและหนูขาวที่มีภาวะเบาหวานที่ได้รับวิตามินอีและสารสกัดสาหร่ายเตา ขนาด 1000 mg/kg BW พบว่าการเปลี่ยนแปลงระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือดเมื่อให้สารละลายกลูโคสในหนูที่มีภาวะเบาหวานที่ได้รับวิตามินอีและได้รับน้ำมันข้าวโพดมีค่าเพิ่มสูงขึ้นมากกว่าหนูขาวเบาหวานควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ และสอดคล้องกับผลต่อ area under the curve for glucose (AUG for glucose) ที่มีผลเพิ่มขึ้นทั้ง total area under the curve (TAUC), basal area under the curve (BAUC) และ incremental area under the curve (IAUC) (รูปที่ 15 A, B, และ C) ซึ่งบ่งชี้ว่ามีความรุนแรงของภาวะดื้อต่ออินซูลินที่เพิ่มสูงขึ้น และวิตามินอีนั้นก็ไม่มีผลช่วยลด whole body insulin resistance แต่อย่างใด

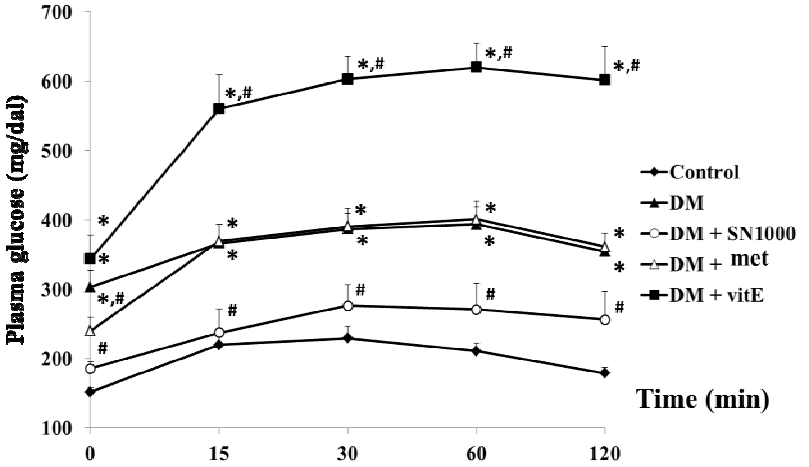
ผลของสารสกัดสาหร่ายเตา (SN) ต่อการสะสมของไขมันในเนื้อเยื่อตับ (hepatic triglyceride content)

ภาพที่ 17 แสดงผลการให้สารทดสอบต่อปริมาณของ hepatic triglyceride content พบว่าในหนูขาวปกติที่ได้รับทั้งสารสกัดสาหร่ายเตาขนาดสูงและน้ำมันข้าวโพดมีค่า hepatic triglyceride content ที่ไม่แตกต่างไปจากกลุ่มหนูขาวปกติควบคุม ขณะที่หนูขาวที่มีภาวะเบาหวานควบคุมมีระดับ hepatic triglyceride content เพิ่มสูงขึ้น (+93 %) มากกว่าหนูขาวปกติควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ สำหรับการให้สารสารสกัดสาหร่ายเตาขนาดสูง (1000mg/kg BW), ยา metformin และวิตามินอี แก่หนูที่มีภาวะเบาหวานมีผลช่วยลด hepatic triglyceride content ได้อย่างมีนัยสำคัญ (-65.7 %, -36.3% และ –50.5% ตามลำดับ)

(A)

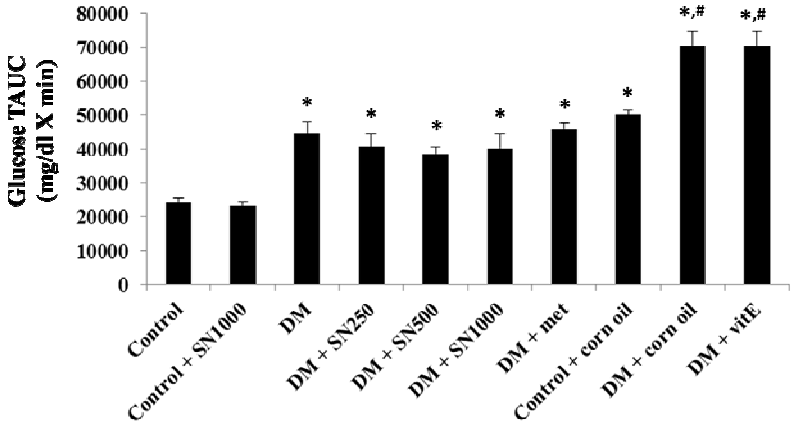


(B)

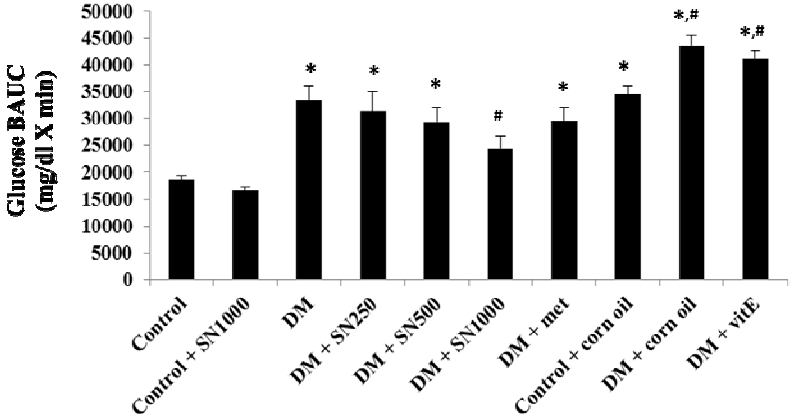


รูปที่ 15 ผลของสารสกัดของสาหร่ายเตาต่อการเปลี่ยนแปลงระดับ glucose ในเลือดจากการทดสอบความทนทานต่อกลูโคสในหนูขาวปกติเทียบกับหนูขาวที่มีภาวะเบาหวานชนิดที่ 2 ที่ได้รับและไม่ได้รับสารสกัดสาหร่ายเตาในขนาดต่างๆ * $P < 0.05$ vs. control ; # $P < 0.05$ vs. DM

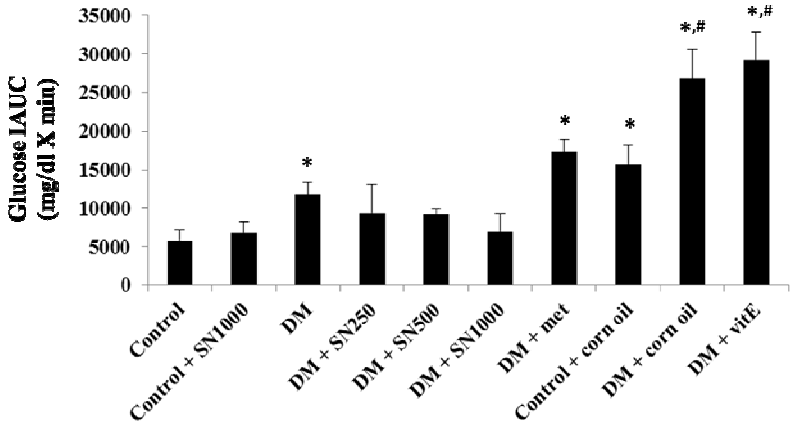
(A)



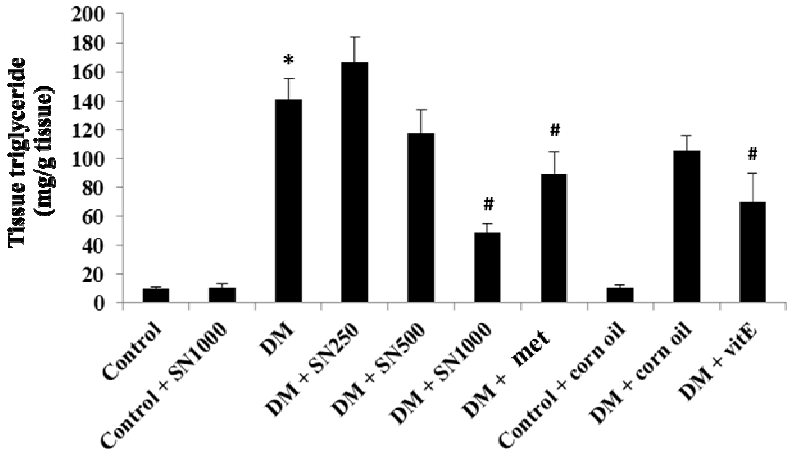
(B)



(C)



รูปที่ 16 ผลของสารสกัดของสาหร่ายเตาต่อพื้นที่ใต้กราฟของกลูโคสจากการทดสอบความทนทานต่อกลูโคส (A) total area under the curve for glucose (glucose TAUC); (B) basal area under the curve for glucose (glucose BAUC); (C) incremental area under the curve for glucose (glucose IAUC)ในหนูขาวปกติเทียบกับหนูขาวที่มีภาวะเบาหวานชนิดที่ 2 ที่ได้รับและไม่ได้รับสารสกัดสาหร่ายเตาในขนาดต่างๆ * $P < 0.05$ vs. control ; # $P < 0.05$ vs. DM



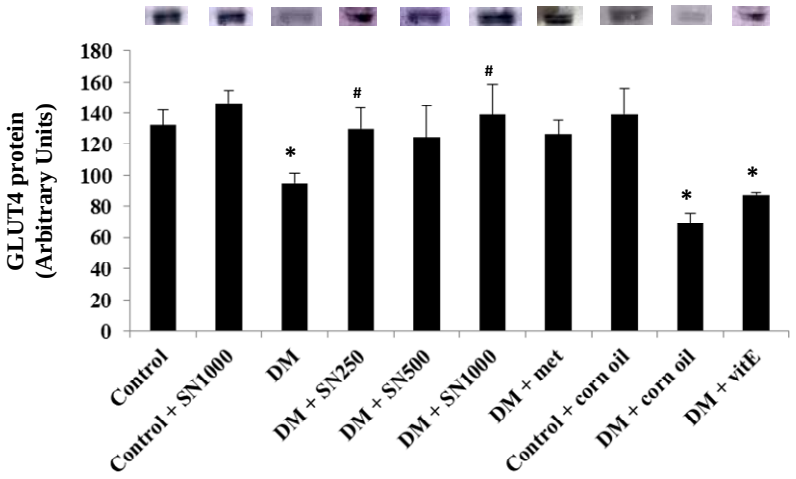
รูปที่ 17 ผลของสารสกัดของสาหร่ายเตาต่อปริมาณ Hepatic triglyceride content ในหนูขาวปกติเทียบกับหนูขาวที่มีภาวะเบาหวานชนิดที่ 2 ที่ได้รับและไม่ได้รับสารสกัดสาหร่ายเตาในขนาดต่างๆ * $P < 0.05$ vs. control ; # $P < 0.05$ vs. DM

ผลของสารสกัดสาหร่ายเตา (SN) ต่อการส่งสัญญาณอินซูลิน (insulin signaling) ในกล้ามเนื้อลาย

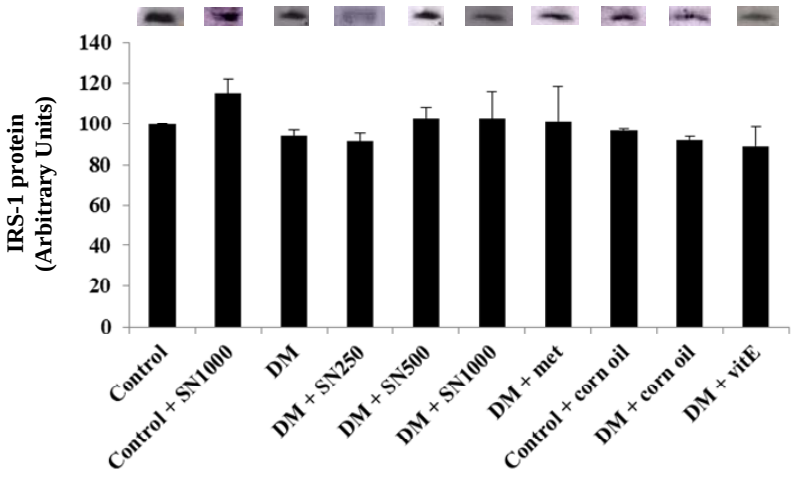
เพื่อศึกษาเกี่ยวกับกลไกที่เกี่ยวข้องกับ antihyperglycemic effect คณะผู้วิจัยจึงได้ทำการศึกษาการแสดงออกของ GLUT4 (รูปที่ 18) และ IRS-1 protein (รูปที่ 19) ในกล้ามเนื้อ soleus โดยวิธี western blot ผลการศึกษาพบว่า ในหนูขาวที่มีภาวะเบาหวานควบคุมมีระดับ GLUT4 protein ที่น้อยกว่ากลุ่มหนูขาวปกติควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ(-28 %) บ่งชี้กว่ามีความบกพร่องของกระบวนการ glucose uptake ในกล้ามเนื้อลายซึ่งเป็น major target organ ของ insulin ซึ่งโดยปกติภายหลังมื้ออาหารประมาณ 70-80% ของ glucose จะถูก uptake เข้าสู่กล้ามเนื้อลาย และการแสดงออกของ GLUT4 protein นั้นจะถูกควบคุมด้วย insulin โดยผ่านทาง insulin signaling cascade ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้ ใช้การวัดระดับการแสดงออกของ IRS-1 protein เพื่อบ่งชี้ถึง proximal insulin signaling activation และพบว่าในหนูเบาหวานควบคุมมีระดับ IRS-1 protein ที่น้อยกว่ากลุ่มหนูขาวปกติควบคุม (-6 %) โดยผลดังกล่าวนั้นยังพบในกลุ่มหนูขาวที่มีภาวะเบาหวานที่ได้รับน้ำมันข้าวโพดด้วยเช่นกัน

การให้สารสกัดสาหร่ายเตาในขนาดต่างๆมีผลเพิ่มการแสดงออกของ GLUT4 protein โดยพบว่ามีการแสดงออกของ GLUT4 protein เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญในหนูขาวที่มีภาวะเบาหวานที่ได้รับสารสกัดสาหร่ายเตาที่ขนาด 250 mg/kg BW (+36.7 %) และ 1000 mg/kg BW(+45.9 %) สอดคล้องกับผลการแสดงออกของ IRS-1 protein ที่มีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้น ผลดังกล่าวแสดงให้เห็นว่ากลไกหนึ่งที่อาจเกี่ยวข้องกับ antihyperglycemic effect ของสารสกัดสาหร่ายเตา คือมีการ

ตอบสนองต่อ insulin เพิ่มขึ้น (insulin sensitivity) มีการแสดงออกของ IRS-1 protein และGLUT4 protein เพิ่มขึ้น ส่งผลให้การ uptake ของ glucose เข้าสู่เซลล์กล้ามเนื้อลายมีประสิทธิภาพที่ดีขึ้น สำหรับการให้วิตามินอีในหนูเบาหวานนั้นก็พบว่าสามารถเพิ่ม GLUT4 protein ได้เช่นเดียวกัน



รูปที่ 18 ผลของสารสกัดของสาหร่ายเตาต่อการแสดงออกของ GLUT4 protein ในกล้ามเนื้อ soleus ในหนูขาวปกติเทียบกับหนูขาวที่มีภาวะเบาหวานชนิดที่ 2 ที่ได้รับและไม่ได้รับสารสกัดสาหร่ายเตาในขนาดต่างๆ * $P < 0.05$ vs. control ; # $P < 0.05$ vs. DM



รูปที่ 19 ผลของสารสกัดของสาหร่ายเตาต่อการแสดงออกของ IRS-1 protein ในกล้ามเนื้อ soleus ในหนูขาวปกติเทียบกับหนูขาวที่มีภาวะเบาหวานชนิดที่ 2 ที่ได้รับและไม่ได้รับสารสกัดสาหร่ายเตาในขนาดต่างๆ * $P < 0.05$ vs. control ; # $P < 0.05$ vs. DM

ผลของสารสกัดสาหร่ายเตา (SN) ในการต้านอนุมูลอิสระในเลือด (antioxidant activity)

เพื่อศึกษาผลของสารสกัดสาหร่ายเตาต่อระบบต้านอนุมูลอิสระของร่างกายทั้งในภาวะปกติและในเบาหวานชนิดที่ 2 คณะผู้วิจัยจึงได้ทำการวัดปริมาณของ MDA ในเลือดเพื่อใช้บ่งชี้ถึงการเกิด Lipid peroxidation แต่ปรากฏว่าค่าที่ตรวจวัดได้มีระดับต่ำมากและไม่แตกต่างกันระหว่างกลุ่มหนูขาวปกติและหนูขาวเบาหวานชนิดที่ 2 ทั้งนี้สาเหตุหนึ่งน่าจะเนื่องจากระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือดของหนูขาวที่มีภาวะเบาหวานชนิดที่ 2 นี้ไม่ได้สูงมากอย่างที่จะพบในภาวะเบาหวานชนิดที่ 1 (ซึ่งจะสามารถเห็นการเปลี่ยนแปลงค่าที่ชัดเจนมากกว่า) และอีกหนึ่งสาเหตุคือระยะเวลาที่ศึกษาเพียง 12 สัปดาห์ อาจจะเพิ่งเริ่มระยะแรกของการเกิด oxidative stress ที่เกิดจากการควบคุมระดับ glucose ในเลือดได้ไม่ดี

ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงได้ทำการปรับเปลี่ยนระเบียบวิธีวิจัยไปทำการศึกษาค่าต่างๆที่ใช้บ่งชี้การเกิด oxidative stress และการลดภาวะ oxidative stress มาตรวจวิเคราะห์จากเนื้อเยื่อของหัวใจและไตแทน ซึ่งน่าจะสามารถใช้อธิบายการเกิดภาวะแทรกซ้อนทางหัวใจและไตในหนูขาวที่มีภาวะเบาหวานได้โดยตรงมากกว่า

วิจารณ์ผลการทดลอง

ในการศึกษานี้จะเห็นว่าหนูขาวที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะเบาหวานชนิดที่ 2 โดยการให้อาหารไขมันสูงร่วมกับการฉีด streptozotozin (STZ) ขนาด 35 mg/kg BW เข้าทางช่องท้อง มีลักษณะอาการและอาการแสดงว่าเป็นเบาหวานชนิดที่ 2 อย่างชัดเจน ได้แก่ มีภาวะอ้วน (obesity) จากค่าน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับค่า visceral fat และ relative visceral fat mass ที่เพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับหนูขาวปกติควบคุม และมีค่าระดับ glucose ในเลือดที่เพิ่มสูงขึ้น (hyperglycemia) โดยที่มีระดับของระดับ insulinในเลือดไม่แตกต่างจากหนูขาวปกติควบคุม บ่งชี้ว่ามีภาวะดื้อต่ออินซูลิน (insulin resistance) เกิดขึ้น สอดคล้องกับค่า HOMA index ที่เพิ่มสูงขึ้นกว่า113% เมื่อเทียบกับหนูขาวปกติ และยังมีภาวะ dyslipidemia ร่วมด้วยดังจะเห็นได้จากการมีระดับของ Triglyceride , Cholesterol และ Free fatty acids ในเลือดสูงขึ้นร่วมกับมีการลดลงของ HDL ซึ่งผลดังกล่าวนี้พบได้เช่นเดียวกันกับหลายๆการศึกษาที่ผ่านมา [42, 43] และมีลักษณะพยาธิสภาพที่คล้ายคลึงกับในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 ดังนั้น animal model นี้จึงสามารถนำมาใช้ในการศึกษานี้ได้ต่อไป

การให้สารสกัดด้วยน้ำของสาหร่ายเตาทางปากในขนาดต่างๆ คือ 250 mg/kg BW, 500 mg/kg BW และ 1000 mg/kg BW เป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่ามีผลช่วยลดระดับ glucose ในเลือดได้อย่างมีนัยสำคัญ โดยขนาดของสารสกัดสาหร่ายเตาที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการลดระดับ glucose ในเลือด (effective dose) คือขนาด 1000 mg/kg BW/day ซึ่งการให้สารสกัดสาหร่ายในขนาดดังกล่าวนี้ไม่พบการเปลี่ยนแปลงของระดับ insulin ในเลือด แสดงให้เห็นว่าการลดลงของ

ระดับ glucose ในเลือดไม่ได้เป็นผลจากการกระตุ้นให้การหลั่ง insulin เพิ่มขึ้นจากตับอ่อนโดยตรง แต่อาจเป็นผลเนื่องจากการเพิ่มความไวในการตอบสนองต่อ insulin (insulin sensitivity) ของเนื้อเยื่อที่สูงขึ้น ซึ่งสนับสนุนสมมุติฐานนี้ได้ด้วยการที่พบว่าค่า HOMA index และ glucose response จากการทำ oral glucose tolerance test ที่ลดลง [44] ในหนูที่มีภาวะเบาหวานที่ได้รับสารสกัดสาหร่ายเตาขนาด 1000 mg/kg BW และการเพิ่มขึ้นของ insulin sensitivity อาจจะส่งผลให้กระบวนการ glucose uptake ในกล้ามเนื้อลายเพิ่มขึ้น เนื่องจากพบว่าในหนูขาวที่มีภาวะเบาหวานที่ไม่ได้รับการรักษาจะมีการปรากฏของ GLUT4 protein และ IRS-1 protein ที่ลดลงแล้วส่งผลให้มี glucose uptake ที่ลดลง [44-47] แต่เมื่อให้สารสกัดสาหร่ายเตาขนาด 1000 mg/kg BW แล้วพบว่าว่ากลับมีการเพิ่มขึ้น (restore) ของการปรากฏ GLUT4 protein ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Hundal HS 1992 [44] และ Asare 2011 [46] แต่ไม่พบการเพิ่มขึ้นของปริมาณ IRS-1 protein ซึ่งในบางการศึกษาก็พบว่าการเพิ่มขึ้นของ insulin sensitivity นั้นเกี่ยวข้องกับการเพิ่มขึ้นของ IRS-1 phosphorylation มากกว่าที่จะเป็นผลของการเพิ่ม IRS-1 protein expression [48] ดังนั้นในประเด็นนี้น่าจะต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมต่อไป สำหรับการเพิ่มขึ้นของ GLUT4 protein expression นั้นอีกหนึ่งกลไกที่อาจเกี่ยวข้องคือเป็นผลเนื่องจากการลดลงของไขมันต่างๆในเลือด เช่น Triglyceride, free fatty acids และการเพิ่มขึ้นของ HDL-C ในหนูเบาหวานที่ได้รับสารสกัดสาหร่าย ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Boden G. และคณะในปี 2004 [49] และ Dresner A. และคณะในปี 1999 [50] ที่พบว่า ภาวะ dyslipidemia โดยเฉพาะอย่างยิ่ง Free fatty acids ในเลือดมีผลเพิ่มการสะสมของ Triglyceride ในเนื้อเยื่อ ซึ่งจะไปมีผล impaired insulin signaling, ลดการ Translocation และ activation ของ GLUT4 และในที่สุดจะส่งผลให้มีการ uptake ของกลูโคสลดลง

สำหรับการให้สารสกัดสาหร่ายเตาในขนาดสูงถึง 1000 mg/kg BW ทั้งในหนูขาวปกติและหนูขาวเบาหวานเป็นเวลานาน 12 สัปดาห์นั้น คณะผู้วิจัยไม่พบอาการเป็นพิษหรือสิ่งผิดปกติแต่อย่างใด รวมทั้งลักษณะของอวัยวะภายในต่างๆ เช่น ขนาดและสีของตับ ลำไส้ ไต เป็นต้น

จากผลการทดลองดังกล่าวข้างต้นจะเห็นได้ว่าสารสกัดด้วยน้ำจากสาหร่ายเตามีฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญคือสามารถลดทั้งระดับน้ำตาลกลูโคสและไขมันชนิดต่างๆในเลือด รวมทั้งการเพิ่มระดับของ HDL-C ในเลือด ซึ่งยังพบว่ามีประสิทธิภาพที่ดีเช่นเดียวกับยา metformin ที่ใช้ในผู้ป่วยเบาหวานปัจจุบันนี้ ดังนั้นสารสกัดสาหร่ายเตาจึงเป็นสมุนไพรตัวหนึ่งที่มีศักยภาพสูงในการที่จะพัฒนาต่อยอดเพื่อเป็นอาหารสุขภาพ หรือยาเสริม (additive treatment) สำหรับผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 ต่อไป โดยขนาดที่เป็น effective dose คือ 1000 mg/kg BW ดังนั้นในการศึกษาลำดับต่อไปที่เกี่ยวกับการลดการเกิดภาวะแทรกซ้อนระยะเริ่มแรกในไต หัวใจและหลอดเลือด คณะผู้วิจัยจึงเลือกที่จะศึกษาโดยมุ่งเน้นไปที่ผลของการให้สารสกัดสาหร่ายเตา ขนาด 1000 mg/kg BW เท่านั้น

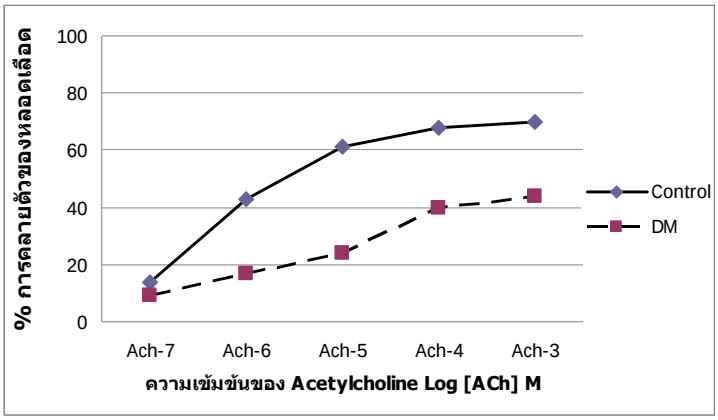
กิจกรรมที่ 3 :- การศึกษาผลของสาหร่ายเตาต่อกลไกการทำงานของหลอดเลือดและการต้านการเกิดการอุดตันของหลอดเลือดในหนูขาวเบาหวานชนิดที่ 2 ที่มีภาวะแทรกซ้อนของหัวใจและหลอดเลือดในระยะแรก

ผลของสารสกัดสาหร่ายเตา (SN) ต่อการทำงานของ endothelial cell ของหลอดเลือด

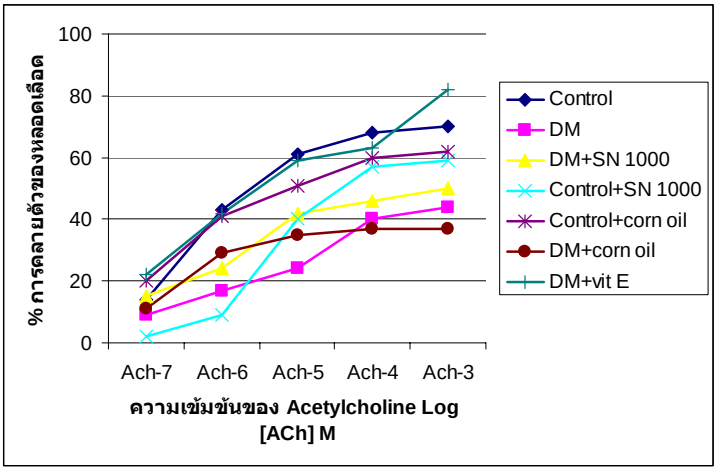
จากผลการทดลองจะเห็นว่ากลุ่มหนูขาวที่มีภาวะเบาหวานมีการคลายตัวของหลอดเลือด thoracic aorta ตอบสนองต่อ ACh หลังจากเหนี่ยวนำให้มีการหดตัวโดย phenylneprine ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม แสดงว่าในภาวะเบาหวานการตอบสนองต่อการคลายตัวของหลอดเลือดทำได้ลดลง แต่ในหนูที่มีภาวะเบาหวานที่ได้รับการรักษาด้วยสารสกัดสาหร่ายเตาความเข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว มีแนวโน้มในการตอบสนองต่อ ACh ดีขึ้น ใกล้เคียงกับการรักษาด้วยยา metformin มีผลทำให้การคลายตัวของหลอดเลือดมีแนวโน้มที่ดีมากกว่าในกลุ่มเบาหวานที่ไม่ได้รับการรักษา นอกจากนี้พบว่าการรักษาด้วย vitamin E มีผลทำให้การคลายตัวของหลอดเลือดในหนูขาวที่มีภาวะเบาหวานดีขึ้นใกล้เคียงกับกลุ่มควบคุม แสดงว่าการรักษาด้วยสารสกัดสาหร่ายเตาในภาวะเบาหวานมีผลทำให้การคลายตัวของหลอดเลือดที่ตอบสนองต่อ ACh ดีขึ้น ดังแสดงในรูปที่ 20 A, B และ C การให้น้ำมันข้าวโพดซึ่งเป็นตัวทำละลาย vitamin E ในกลุ่มควบคุมและกลุ่มเบาหวานพบว่าให้ผลการทดลองไม่ต่างจากกลุ่มที่ไม่ได้รับน้ำมันข้าวโพด

ผลการศึกษาการคลายตัวของหลอดเลือดในภาวะเบาหวานเปรียบเทียบกับภาวะปกติแล้วพบว่าในภาวะเบาหวานมีการตอบสนองต่อการคลายตัวของหลอดเลือดลดลง เนื่องจากในภาวะเบาหวานมีการรบกวนการทำงานของ endothelial cell ซึ่งมีผลเกี่ยวข้องกับการคลายตัวของหลอดเลือด จึงทำให้การตอบสนองต่อการคลายตัวของหลอดเลือดในสัตว์ทดลองลดลง แสดงให้เห็นว่าภาวะเบาหวานมีผลต่อการทำงานของ endothelial cell ของหลอดเลือดส่งผลให้การตอบสนองต่อการคลายตัวของหลอดเลือดแดงผ่านการทำงานของ endothelial cell ลดลง ซึ่งมีผลทำให้ผู้ป่วยเบาหวานมีภาวะความผิดปกติของการทำงานของหลอดเลือดทำให้เกิดภาวะแทรกซ้อนต่างๆ ตามมาเช่น ความดันโลหิตสูง, โรคหัวใจ และโรคไตในเวลาต่อมา และเมื่อพบว่าในหนูที่ภาวะเบาหวานที่ได้รับสารสกัดของสาหร่ายเตา (ขนาด 1000 mg/kg BW) มีการคลายตัวของหลอดเลือดที่ตอบสนองต่อ ACh มีแนวโน้มที่ดีขึ้น แสดงให้เห็นว่าการรักษาด้วยสารสกัดของสาหร่ายเตามีผลช่วยเพิ่มการคลายตัวของหลอดเลือดให้ดีขึ้น ซึ่งกลไกน่าจะเกี่ยวกับการช่วยให้การทำงานของหลอดเลือดผ่านทาง endothelial cell ดีขึ้น สาหร่ายอาจจะมีฤทธิ์ป้องกันการเกิดการทำลาย endothelial cell ซึ่งเป็นผลมาจากการที่สารสกัดสาหร่ายเตามีฤทธิ์ลดน้ำตาลในเลือดทำให้การเกิดอนุมูลอิสระลดลงซึ่งมีผลทำให้เกิดการทำลาย endothelial cell ลดลง ทำให้ลดภาวะเสี่ยงต่อการเกิดภาวะแทรกซ้อนต่างๆ ของหลอดเลือด

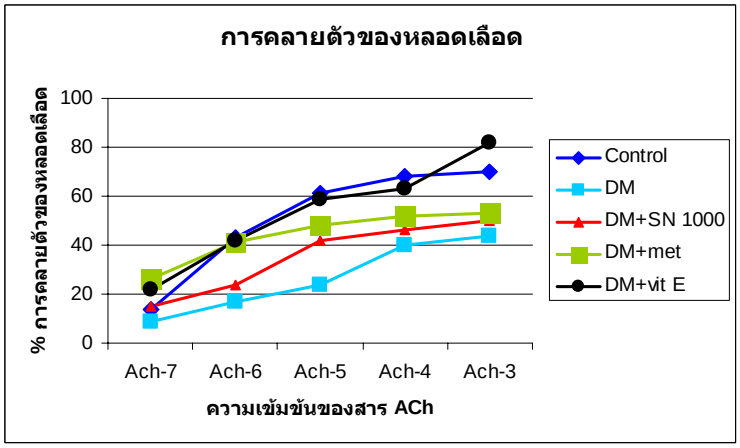
A.



B.



C.



รูปที่ 20 ผลของสารสกัดสาหร่ายเตาต่อการคลายตัวของหลอดเลือดเปรียบเทียบระหว่างหนูขาวปกติกับหนูขาวที่มีเบาหวานชนิดที่ 2 ที่ได้รับสารสกัดสาหร่ายเตาขนาด 1000 mg/kg BW

ส่วนผลการทดลองที่พบว่าการคลายตัวของหลอดเลือดของหนูขาวกลุ่มปกติที่ได้รับสารสกัดสาหร่ายเตาขนาด 1000 mg/kg BW มีค่าต่ำกว่ากลุ่มอื่นๆเมื่อความเข้มข้นของ ACh ต่ำๆ นั้น อาจเนื่องจากสารสกัดที่ใช้ในการทดลองนี้ประกอบด้วยสารออกฤทธิ์หลายอย่างรวมกัน ซึ่งสารออกฤทธิ์บางอย่างอาจมีฤทธิ์ในการคลายตัวของหลอดเลือดน้อยเมื่อใช้ความเข้มข้นต่ำ และเห็นผลชัดเจนมากขึ้นในกลุ่มสัตว์ทดลองที่ไม่มีภาวะน้ำตาลในเลือดสูง ดังนั้นจึงต้องมีการศึกษาต่อไปถึงฤทธิ์ของสารประกอบแต่ละชนิดที่มีอยู่ในสารสกัดรวมถึงความเข้มข้นของสารที่มีผลในการคลายตัวของหลอดเลือดที่ดีในภาวะต่างๆด้วย

ผลของสารสกัดสาหร่ายเตา (SN) ในการป้องการการเกิดภาวะ oxidative stress ในกล้ามเนื้อหัวใจ

เนื่องจากสาหร่ายเตาให้ผลในการลดระดับน้ำตาลในเลือดซึ่งน่าจะเป็นฤทธิ์ที่สำคัญที่ทำให้สารสกัดสาหร่ายเตาให้ผลในการลดภาวะแทรกซ้อนของหัวใจและหลอดเลือด คณะผู้วิจัยจึงทำการศึกษาการแสดงออกของโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการเกิด oxidative stress ในหัวใจและหลอดเลือดเนื่องจากมีรายงานว่ามีการเพิ่มขึ้นของภาวะ oxidative stress ในภาวะเบาหวานจากการที่มีน้ำตาลในเลือดสูง [51] โปรตีนที่สำคัญในการตอบสนองต่อการเพิ่มขึ้นของภาวะ oxidative stress ไดแก่ PKC ซึ่งโปรตีนนี้จะถูกกระตุ้นเมื่อมีภาวะ oxidative stress เพิ่มขึ้น ผลการทดลองพบว่าการปรากฏของ Akt, PKC และ NF-ΚB ไม่มีความแตกต่างกันระหว่างกลุ่มการทดลองซึ่งอาจจะเป็นผลเนื่องมาจากผลของการปรากฏของโปรตีนนี้อาจจะยังไม่เห็นชัดเจนหรือมีการเปลี่ยนแปลงน้อยทำให้ไม่มีความแตกต่างกัน ซึ่งอาจจะต้องใช้ระยะเวลาในการดำเนินของโรคนานกว่านี้หรือมีระดับน้ำตาลในเลือดที่สูงกว่า

การศึกษาการปรากฏของโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับความผิดปกติของการทำงานของหัวใจเนื่องจากโรคเบาหวานซึ่งส่วนมากจะเกี่ยวข้องกับการเกิดอนุมูลอิสระหรือ oxidative stress และเนื่องจากสาหร่ายเตามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงจึงทำการศึกษาการปรากฏของโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการเกิดภาวะแทรกซ้อนของหัวใจในโรคเบาหวานที่เกี่ยวข้องกับการเกิดอนุมูลอิสระคือ PKC และ NF-ΚB

ผลการทดลองพบว่าการปรากฏของ PKCα ไม่มีความแตกต่างกันระหว่างกลุ่มการทดลอง แต่ภาวะเบาหวานมีผลเพิ่มการปรากฏของ p-PKCα และ NF-ΚB เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมอย่างเด่นชัด การให้สารสกัดสาหร่ายเตามีผลลดการกระตุ้นทั้ง p-PKCα และ NF-ΚB ที่เกิดจาก oxidative stress อย่างเด่นชัด การรักษาด้วย metformin และ vitamin E ได้ผลการทดลองไม่ต่างจากกลุ่มควบคุม ดังแสดงในรูปที่ 21, 22 และ 23

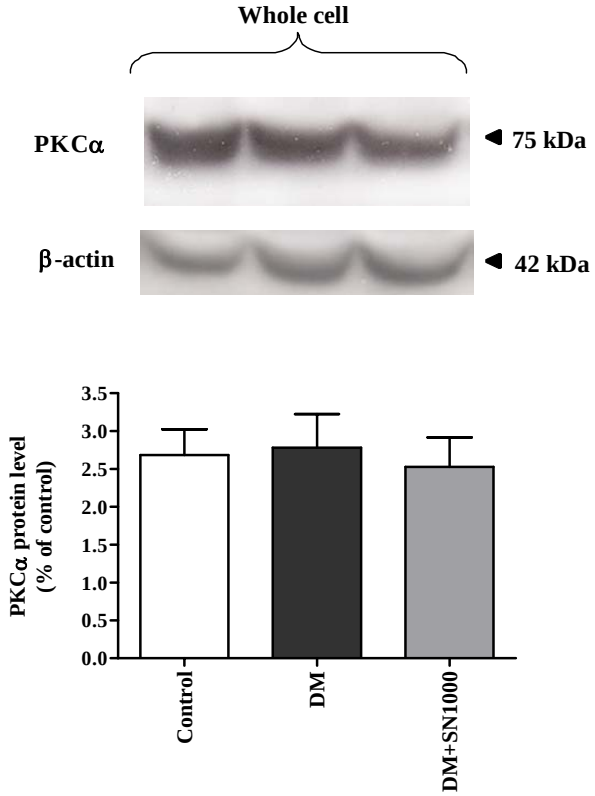
จากผลการทดลอง ภาวะเบาหวานทำให้มีการเพิ่มขึ้นของอนุมูลอิสระในกล้ามเนื้อหัวใจ โดยจากการศึกษาการปรากฏของ PKCα พบว่า p-PKCα มีการปรากฏมากขึ้นในกล้ามเนื้อหัวใจของกลุ่มเบาหวานซึ่งแสดงว่ามีการเพิ่มขึ้นของ oxidative stress ในกล้ามเนื้อหัวใจแล้วมีการกระตุ้น

PKCα ซึ่งเมื่อถูกกระตุ้นมีผลทำให้การปรากฏของ PKCα ในรูปที่พร้อมที่จะกระตุ้นโปรตีนชนิดอื่นคือ p-PKCα เพิ่มขึ้น ซึ่งจะส่งสัญญาณผ่านไปกระตุ้น transcription factor ที่มีความสำคัญเกี่ยวกับการควบคุมการสร้างโปรตีนและเอนไซม์ที่สำคัญคือ NF-ΚB ซึ่งพบว่ามีการปรากฏเพิ่มขึ้นในกลุ่มเบาหวาน [52] การให้สารสกัดสาหร่ายเตาพบว่าสามารถลดการปรากฏของทั้ง p-PKCα และ NF-ΚB แสดงว่าการให้สารสกัดสาหร่ายเตาสามารถลดการเกิดภาวะ oxidative stress ในกล้ามเนื้อหัวใจในระดับโมเลกุล ซึ่งบ่งชี้ว่าสารสกัดสาหร่ายเตาสามารถลดการเกิดภาวะแทรกซ้อนของหัวใจในภาวะเบาหวานได้

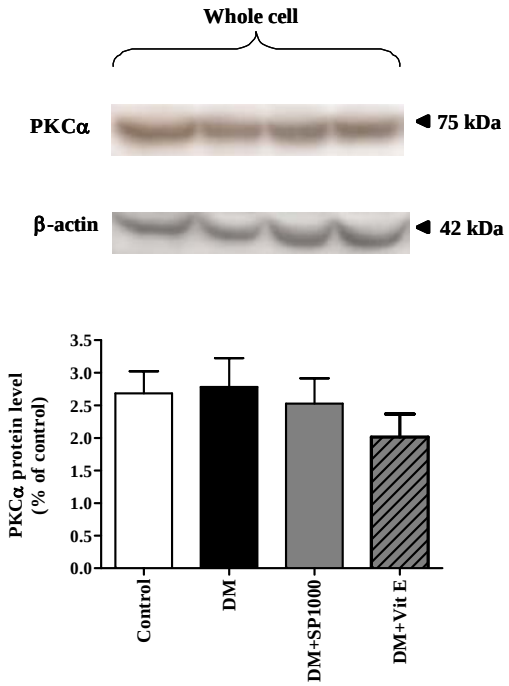
วิจารณ์ผลการทดลอง

สารสกัดสาหร่ายเตามีผลลดภาวะแทรกซ้อนของหัวใจและหลอดเลือดที่เกิดจากเบาหวาน ได้โดยผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการรักษาด้วยสารสกัดของสาหร่ายเตามีผลช่วยเพิ่มการคลายตัวของหลอดเลือดให้ดีขึ้น ซึ่งกลไกน่าจะเกี่ยวกับการช่วยให้การทำงานของหลอดเลือดผ่านทาง endothelial cell ดีขึ้น นอกจากนี้ยังมีผลลดความเสี่ยงต่อการเกิดภาวะหัวใจทำงานผิดปกติ ซึ่งกลไกเกี่ยวข้องกับการลดการเกิดภาวะ oxidative stress ในกล้ามเนื้อหัวใจจากการที่สารสกัดสาหร่ายเตามีผลลดระดับน้ำตาลในเลือดทำให้การเกิด oxidative stress ลดลง ซึ่งแสดงโดยการลดการกระตุ้น p-PKCα และ NF-ΚB ซึ่งเกิดจากภาวะ oxidative stressในกล้ามเนื้อหัวใจหลังได้รับการรักษาด้วยสารสกัดสาหร่ายเตา ดังนั้นจึงเป็นประโยชน์อย่างมากในการพัฒนาสารสกัดของสาหร่ายเตาเพื่อเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารที่ช่วยการทำงานของหัวใจและหลอดเลือดในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 ทำให้ สามารถลดภาวะแทรกซ้อนที่เกี่ยวกับการเสื่อมของหลอดเลือดหรือภาวะหัวใจและหลอดเลือด (cardiovascular disease) ทั้งยังสามารถนำไปใช้ในการป้องกันและรักษาควบคู่ไปกับการรักษาด้วยยาแผนปัจจุบันในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2

A.

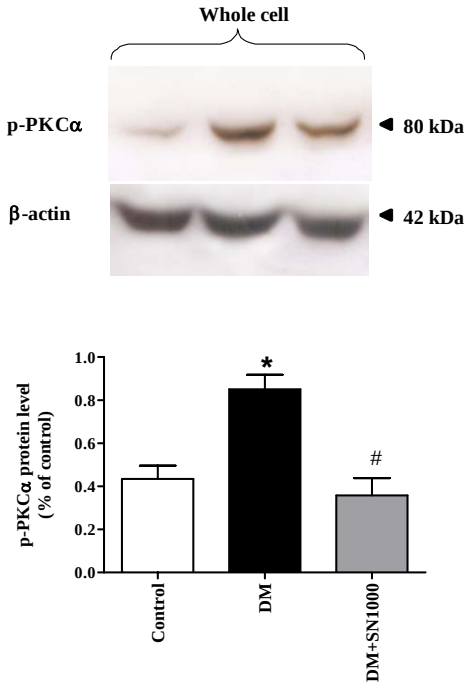


B.

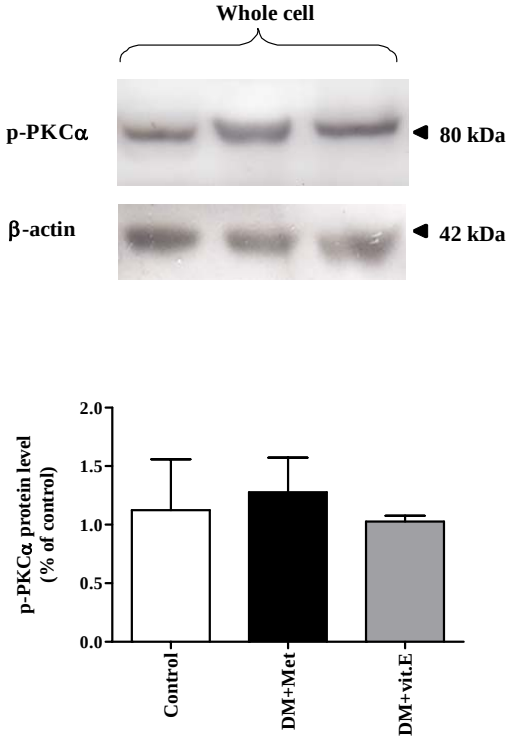


รูปที่ 21 ผลของสารสกัดสาหร่ายเตาต่อการปรากฏของ PKCα ในกล้ามเนื้อหัวใจของหนูขาวปกติกับหนูขาวที่มีเบาหวานชนิดที่ 2 ที่ได้รับสารสกัดสาหร่ายเตาขนาด 1000 mg/kg BW

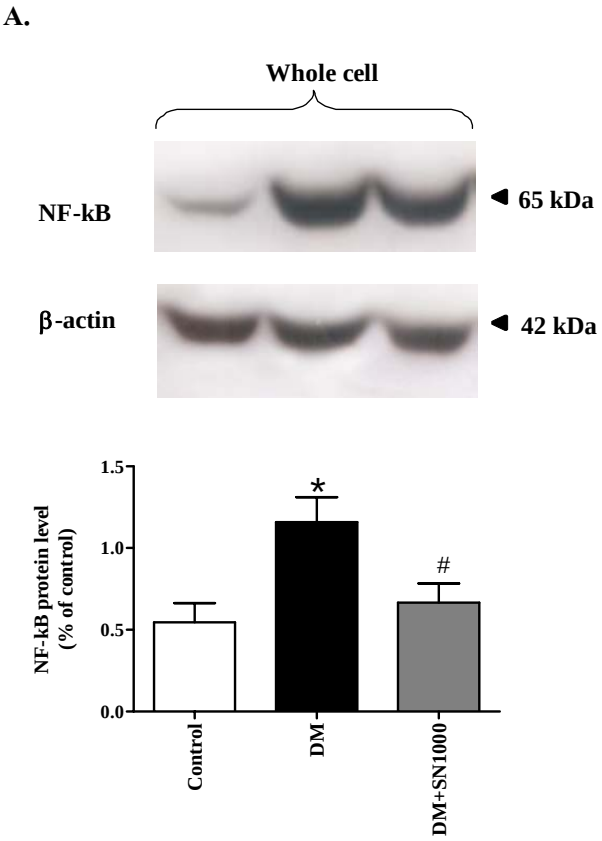
A.



B.



รูปที่ 22 ผลของสารสกัดสาหร่ายเตาต่อการปรากฏของ p-PKCα ในกล้ามเนื้อหัวใจของหนูขาวปกติกับหนูขาวที่มีเบาหวานชนิดที่ 2 ที่ได้รับสารสกัดสาหร่ายเตาขนาด 1000 mg/kg BW
* $P < 0.05$ vs. control ; # $P < 0.05$ vs. DM



รูปที่ 23 ผลของสารสกัดสาหร่ายเตาต่อการปรากฏของ NF-ĸB ในกล้ามเนื้อหัวใจของหนูขาวปกติกับหนูขาวที่มีเบาหวานชนิดที่ 2 ที่ได้รับสารสกัดสาหร่ายเตาขนาด 1000 mg/kg BW * $P < 0.05$ vs. control ; # $P < 0.05$ vs. DM

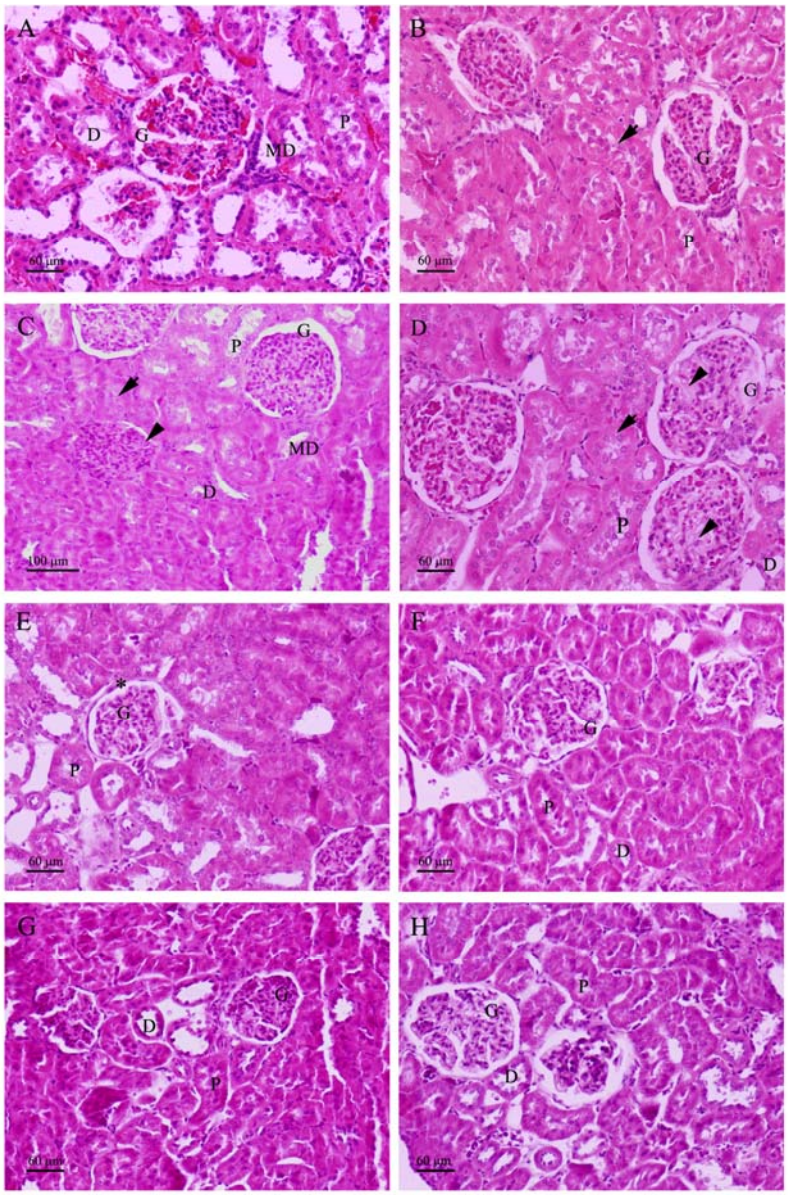
กิจกรรมที่ 4 :- การศึกษาผลของสารสกัดสาหร่ายเตาในการป้องกันและต้านสารอนุมูลอิสระของสาหร่ายเตาต่อการขนส่งสารที่ท่อไตในหนูขาวเบาหวานชนิดที่ 2 ที่มีภาวะแทรกซ้อนทางไตในระยะแรก

ผลของสารสกัดสาหร่ายเตา (SN) ต่อสัณฐานจุลทรรศน์วิทยาของเนื้อเยื่อไต

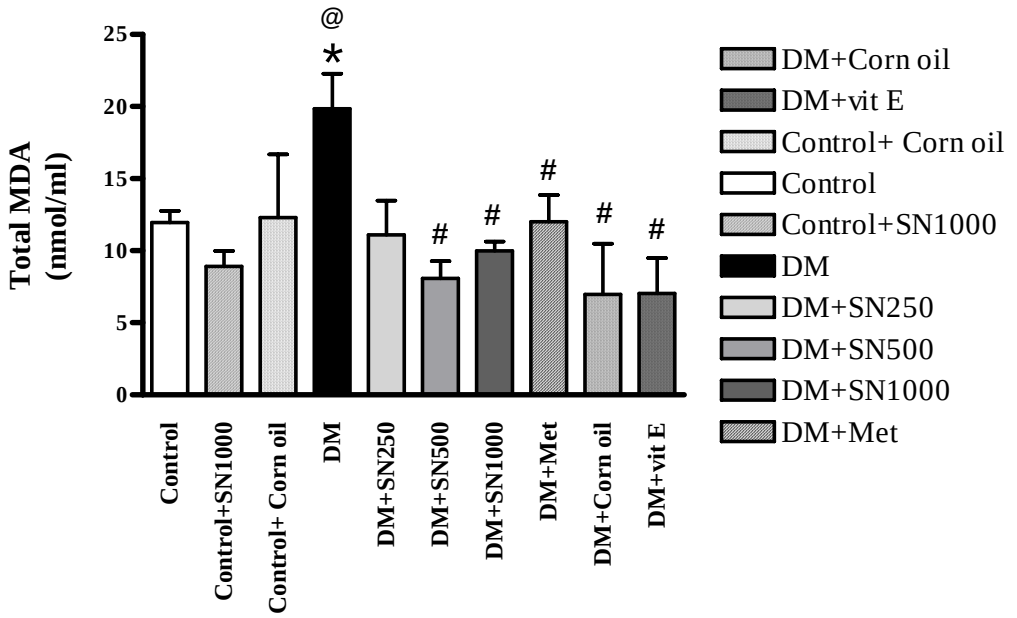
ผลการทดลองพบว่า หนูขาวกลุ่มควบคุมนั้น มีโครงสร้างของโกลเมอรูลัส (G ในรูป) และท่อหน่วยไต (tubular cells) เป็นปกติทุกส่วน (รูปที่ 24A) ส่วนหนูขาวกลุ่มเบาหวานที่ได้รับน้ำมันข้าวโพด (24B), กลุ่มเบาหวานควบคุม (24C), กลุ่มเบาหวานได้รับวิตามินอี (24D), กลุ่มเบาหวานได้รับยา metformin (24E), กลุ่มเบาหวานได้รับสารสกัดสาหร่ายเตาความเข้มข้น 250 (24F), และ 500 mg/kg BW (24G) จะมีส่วนโกลเมอรูลัส (หัวลูกศรในรูป B, C, D) และ membrane (ดอกจันในรูป E) หนาตัวขึ้น เนื่องจาก ยังมีการเสียสภาพของหลอดเลือดโกลเมอรูลัสจากภาวะน้ำตาลในเลือดสูงและภาวะ oxidative stress และพบลักษณะ hypertrophy ของ proximal tubule (P ในรูป A-H) ในขณะที่กลุ่มเบาหวานที่ได้รับสารสกัดสาหร่ายเตาความเข้มข้น 1,000 mg/kg BW (H) นั้น โกลเมอรูลัสและ membrane มีลักษณะใกล้เคียงกับกลุ่มควบคุม และ proximal tubule มีขนาดลดลงอย่างชัดเจน จึงสามารถสรุปได้ว่า สารสกัดสาหร่ายเตาทำให้สัณฐานจุลทรรศน์วิทยาของเนื้อเยื่อไตดีขึ้น นำไปสู่การทำงานของไตที่ดีขึ้น ร่วมกับการเกิดภาวะแทรกซ้อนทางไตจากโรคเบาหวานชนิดที่ 2 ที่ลดลงได้ดีกว่ายา metformin และ สาร antioxidant บางตัว เช่น วิตามินอี

ผลของสารสกัดสาหร่ายเตา (SN) ต่อในการป้องกันและต้านสารอนุมูลอิสระในไต

ผลการทดลองพบว่า ในหนูขาวกลุ่มเบาหวานควบคุมจะมีภาวะแทรกซ้อนทางไตในระยะแรก โดยสังเกตได้จากมีการเพิ่มขึ้นของภาวะ oxidative stress ในไตอย่างเห็นได้ชัด และการใช้สารสกัดสาหร่ายเตาความเข้มข้นปานกลางและสูง (500 และ 1000 mg/kg BW) สามารถลดระดับ glucose ในเลือด (ดังที่ได้กล่าวมาแล้วในผลการทดลองรูปที่ 8) ซึ่งส่งผลโดยตรงต่อปฏิกิริยา lipid peroxidation เนื่องจากภาวะ Oxidative stress ในเนื้อเยื่อไตชั้นนอก ดังกล่าวได้ เป็นอย่างดี (รูปที่ 25) ในขณะที่ยา metformin และ vitamin E ซึ่งมีคุณสมบัติที่ใช้ในการรักษาภาวะน้ำตาลในเลือดสูงและเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ตามลำดับ สามารถลดการเกิด oxidative stress ได้เช่นกัน จึงสามารถสรุปได้ว่า สารสกัดสาหร่ายเตา สามารถช่วยลดกลไกการเกิดภาวะ oxidative stress ได้ จากผลของการลดลงของปฏิกิริยา lipid peroxidation โดยผ่านกลไกทั้งการลดระดับ glucose ในเลือดและลดภาวะ oxidative stress หรืออย่างใดอย่างหนึ่ง



รูปที่ 24 ภาพแสดงสัณฐานจุลทรรศน์วิทยาของเนื้อเยื่อไตของหนูขาวเบาหวานชนิดที่ 2 ที่มีภาวะแทรกซ้อนทางไตในระยะแรก โดยการเปรียบเทียบในกลุ่มควบคุม (A) กลุ่มที่เป็นเบาหวานชนิดที่ 2 ที่ได้รับน้ำมันข้าวโพด (B), กลุ่มเบาหวานควบคุม (C), กลุ่มเบาหวานได้รับวิตามินอี (D), กลุ่มเบาหวานได้รับยา metformin (E), กลุ่มเบาหวานได้รับสารสกัดสาหร่ายเตาความเข้มข้น 250 (F), 500 mg/kg BW (G) และ 1000 mg/kg BW (H) ตามลำดับ. G; glomerulus, P; proximal tubule, D; distal tubule, MD; Macula densa



รูปที่ 25 ผลของสารสกัดสาหร่ายเตาต่อระดับ malondialdehyde (MDA) ในเนื้อเยื่อไตชั้นนอก ของหนูขาวปกติเทียบกับหนูขาวที่มีภาวะเบาหวานชนิดที่ 2 ที่ได้รับและไม่ได้รับสารสกัดสาหร่ายเตา ในขนาดต่างๆ * $P < 0.05$ vs. control ; @ $P < 0.05$ vs. control+SN1000 ; # $P < 0.05$ vs. DM

ผลของสารสกัดสาหร่ายเตา (SN) ต่อการวัดการทำงานและการแสดงออกของยีนสำหรับโปรตีนขนส่งสารอินทรีย์ประจุลบที่อยู่บนผนังเซลล์ของท่อไต

ผลการทดลอง พบว่า การทำงานของโปรตีนขนส่งสารอินทรีย์ประจุลบชนิดที่ 3 ในหนูทุกกลุ่ม ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ณ สภาวะปกติของร่างกายหรือ physiological condition และสารสกัดสาหร่ายเตาทุกความเข้มข้น ไม่ได้เปลี่ยนแปลงการทำงานของโปรตีนขนส่งสารอินทรีย์ประจุลบดังกล่าว (รูปที่ 26A) หรืออีกนัยหนึ่ง อาจกล่าวได้ว่า สารสกัดสาหร่ายเตาไม่ทำให้เกิดพิษหรือส่งผลโดยตรงต่อการทำงานของโปรตีนขนส่งสารอินทรีย์ประจุลบ นอกจากนี้ในระดับโมเลกุล นอกจากมีการแสดงออกของโปรตีนขนส่งสารอินทรีย์ประจุลบชนิดที่ 3 แล้ว ที่เนื้อเยื่อไตส่วนนอกยังมีโปรตีนขนส่งสารอินทรีย์ประจุลบชนิดที่ 1 เป็นจำนวนมากอีกด้วย คณะผู้วิจัยจึงทำการทดลองเพื่อบ่งชี้เชิงลึกระดับโมเลกุล ถึงผลของสารสกัดสาหร่ายเตาต่อการทำงานของโปรตีนขนส่งสารอินทรีย์ประจุลบทั้ง 2 ชนิด ดังกล่าว โดยใช้สารรังสี para-aminohippurate (PAH) ซึ่งเป็นสารจำเพาะต่อโปรตีนทั้งชนิดที่ 1 และ 3 โดยเปรียบเทียบผลกับยา metformin และ vitamin E อีกด้วย ซึ่งจากการทดลองพบว่า การทำงานของโปรตีนขนส่งสารอินทรีย์ประจุลบทั้งชนิดที่ 1 และ 3 ในหนูทุกกลุ่ม ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ณ สภาวะปกติของร่างกายหรือ physiological condition และสารสกัดสาหร่ายเตาที่ความเข้มข้นสูง ยา metformin และ vitamin E ไม่ได้

เปลี่ยนแปลงการทำงานของโปรตีนขนส่งสารอินทรีย์ประจุลบทั้ง 2 ชนิดดังกล่าว ในสภาวะปกติของร่างกายเช่นเดียวกัน (รูปที่ 26B)

จากการทดลองวัดระดับการแสดงออกของยีนสำหรับโปรตีนทั้ง 2 ชนิด โดยใช้เทคนิค quantitative reverse transcriptase polymerase chain reaction (qRT-PCR) พบว่า การแสดงออกในระดับยีนสำหรับโปรตีนขนส่งสารอินทรีย์ประจุลบทั้งชนิดที่ 1 และ 3 ในหนูกลุ่มควบคุม กลุ่มเบาหวานควบคุม และกลุ่มเบาหวานได้รับสารสกัดสาหร่ายเตาความเข้มข้น 1000 mg/kg BW ไม่มีความแตกต่างกัน ณ สภาวะปกติ หรือ physiological condition และสารสกัดสาหร่ายเตาไม่ได้ส่งผลควบคุมและเปลี่ยนแปลง ณ ระดับการแสดงออกของยีนสำหรับโปรตีนขนส่งสารอินทรีย์ประจุลบทั้ง 2 ชนิดดังกล่าว (รูปที่ 26C) จึงสามารถสรุปได้ว่า จากภาวะน้ำตาลในเลือดสูงและภาวะ oxidative stress ไม่ได้ส่งผลต่อการทำงานของโปรตีนขนส่งสารอินทรีย์ประจุลบชนิดที่ 1 และ 3 และ ยา metformin และ vitamin E ที่สามารถลดภาวะน้ำตาลในเลือดสูงและภาวะ oxidative stress ได้ ก็ไม่ได้ส่งผลต่อการทำงานของโปรตีนดังกล่าวเช่นกัน อีกทั้งผลการได้รับสารสกัดสาหร่ายเตาขนาดสูง ไม่ได้ทำให้เกิดพิษ หรือส่งผลโดยตรงต่อการควบคุมและเปลี่ยนแปลง ณ ระดับการแสดงออกของยีนสำหรับโปรตีนขนส่งสารอินทรีย์ประจุลบชนิดที่ 1 และ 3 อีกด้วย

ผลของสารสกัดสาหร่ายเตา (SN) ต่อการวัดการทำงานของโปรตีนขนส่งสารอินทรีย์ประจุลบที่อยู่บนผนังเซลล์ของท่อไตในสภาวะที่ถูกกระตุ้นด้วย insulin ผ่านทางการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของ insulin ของท่อไต

ผลการทดลองพบว่า insulin สามารถกระตุ้นการส่งสัญญาณภายในเซลล์และเพิ่มการทำงานของโปรตีนขนส่งสารอินทรีย์ประจุลบในหนูขาวปกติได้เช่นเดียวกับการศึกษาที่ผ่านมา [4-6] แต่ผลของ insulin ต่อการเพิ่มการทำงานของโปรตีนขนส่งสารอินทรีย์ประจุลบไม่เกิดขึ้น ในหนูขาวกลุ่มเบาหวานควบคุม กลุ่มเบาหวานที่ได้รับยา metformin และกลุ่มเบาหวานที่ได้รับน้ำมันข้าวโพด ซึ่งมีความผิดปกติในการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของ insulin ในขณะที่ สารสกัดสาหร่ายเตา ความเข้มข้นสูง (1000 mg/kg BW) ซึ่งไม่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงการทำงานและการแสดงออกของโปรตีนขนส่งสารอินทรีย์ประจุลบในสภาวะปกติ (physiological condition) (รูปที่ 26A และ B) แต่สามารถเพิ่มการทำงานของโปรตีนขนส่งสารอินทรีย์ประจุลบให้กลับมาเหมือนกับกลุ่มหนูขาวปกติได้ เหมือนกับผลของกลุ่มเบาหวานที่ได้รับ vitamin E (รูปที่ 27) จากการทดลองครั้งนี้พบด้วยว่าการใช้สารสกัดสาหร่ายเตา ความเข้มข้นต่ำและปานกลาง (250 และ 500 mg/kg BW) ยังไม่สามารถเพิ่มการทำงานของโปรตีนขนส่งสารอินทรีย์ประจุลบ ในสภาวะถูกกระตุ้นด้วย insulin ได้ (ไม่ได้แสดงข้อมูลในรูป; data not shown) ถึงแม้ว่าผลการทดลองในกลุ่มเบาหวานที่ได้รับยา metformin จะไม่เปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่มีแนวโน้มจะสามารถจะเพิ่มการทำงาน ของโปรตีนขนส่งสารอินทรีย์ประจุลบในสภาวะที่ถูกกระตุ้นด้วย Insulin ได้เช่นกัน

ทั้งนี้อาจเกิดเนื่องจากยา metformin น่าจะมีผลโดยตรง (direct action) ต่อภาวะน้ำตาลในเลือดสูงมากกว่าที่จะส่งผลโดยตรงต่อการควบคุมการทำงานของโปรตีนขนส่งสารอินทรีย์ประจุลบในสภาวะถูกกระตุ้น หรืออีกนัยหนึ่งอาจหมายถึง การส่งผลโดยอ้อม (indirect action) ของยา metformin ในการลด glucose ในเลือด ยังไม่เพียงพอที่จะเพิ่มความสามารถในการส่งสัญญาณภายในเซลล์ในไต ให้กลับสู่ปกติได้ เป็นที่น่าสังเกตว่า หนูขาวในกลุ่มควบคุมที่ได้รับสารสกัดสาหร่ายเตาขนาดสูงและกลุ่มควบคุมที่ได้รับน้ำมันข้าวโพด มีความสามารถในการส่งสัญญาณภายในเซลล์ลดลง ไม่เหมือนกลุ่มหนูปกติ ซึ่งส่วนหนึ่งอาจจะเกิดจากภาวะเครียด จากการได้รับสารที่มิใช่อาหารปกติ (feeding stress) เข้าสู่ร่างกาย ซึ่งคณะผู้วิจัยจะทำการศึกษาในโอกาสต่อไป

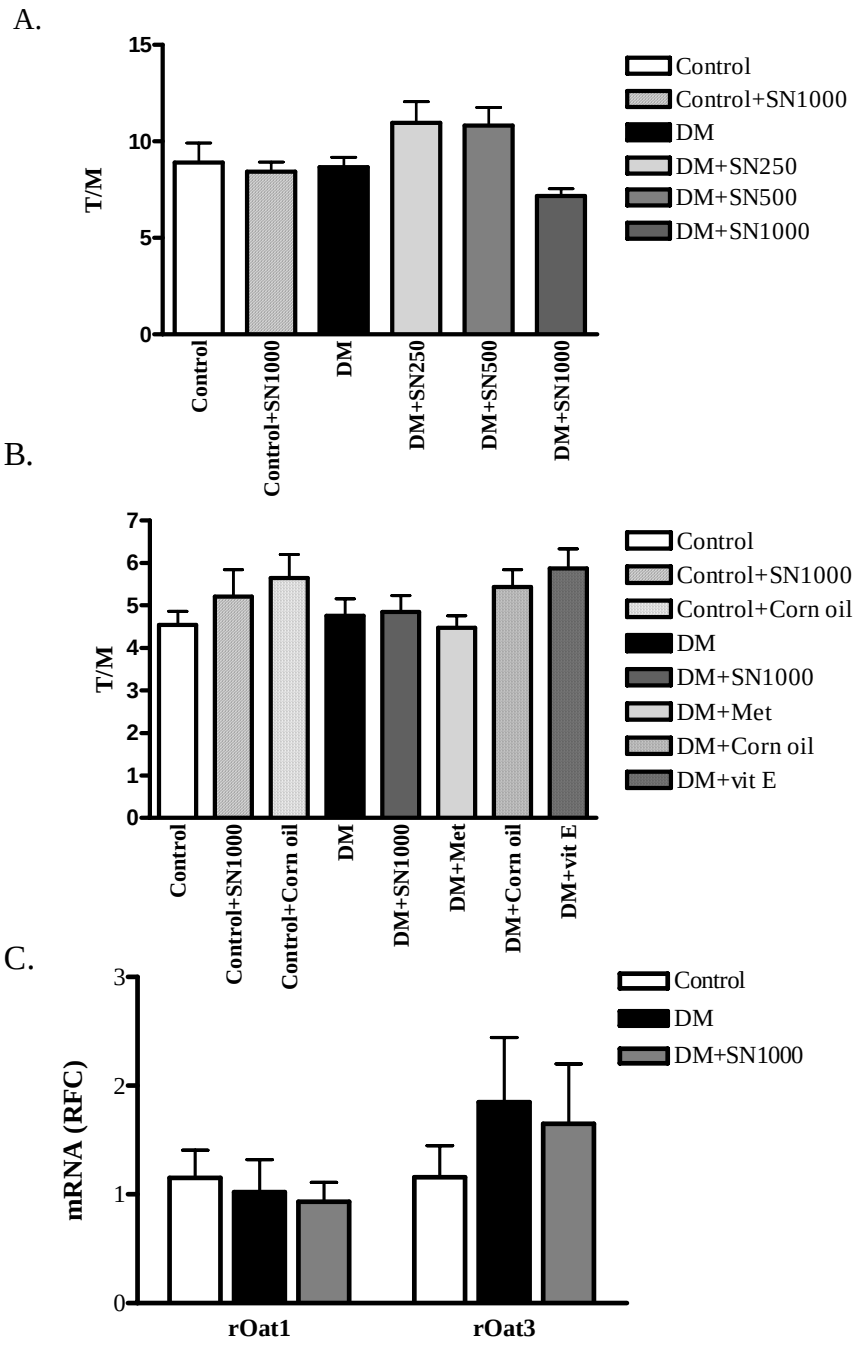
ดังนั้นจากผลการทดลองนี้จึงสามารถสรุปได้ว่า การส่งสัญญาณภายในเซลล์ของ insulin จะสูญเสียไปในหนูขาวที่มีภาวะเบาหวาน ส่งผลให้การทำงานภายหลังถูกกระตุ้นด้วย insulin ของโปรตีนขนส่งสารอินทรีย์ประจุลบเสียไป แต่สารสกัดสาหร่ายเตาสามารถทำให้การส่งสัญญาณภายในเซลล์ของ insulin ในไตกลับมาสู่ระดับปกติได้ จึงสามารถเพิ่มการทำงานของโปรตีนขนส่งสารอินทรีย์ประจุลบได้ เหมือนกับสาร antioxidant เช่น vitamin E ซึ่งมีผลดีว่ายา metformin

ผลของสารสกัดสาหร่ายเตาต่อการแสดงออกในระดับยีนสำหรับเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับภาวะ oxidative stress ในไต

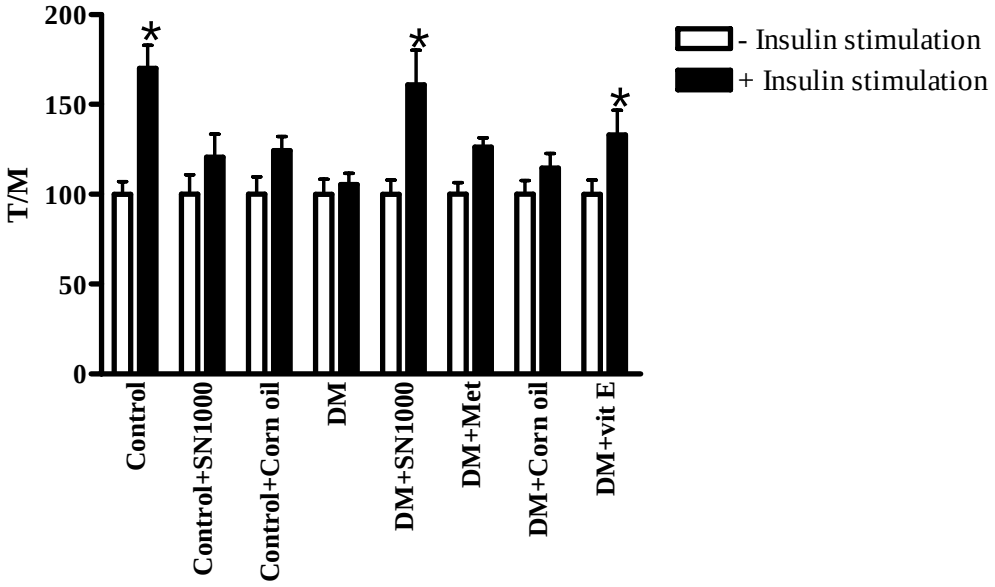
จากรูปที่ 28 พบว่าหนูกลุ่มเบาหวานควบคุมมีการแสดงออกของยีนสำหรับเอนไซม์ Glutathione peroxidase (GPx) ที่ทำหน้าที่ต่อต้านสารอนุมูลอิสระ [53] ในระดับที่สูงกว่า กลุ่มควบคุม แต่เมื่อทำการวัดระดับของยีนสำหรับเอนไซม์ GPx ในหนูกลุ่มเบาหวานที่ได้รับ สารสกัด

สาหร่ายเตาความเข้มข้นสูง (1000 mg/kg BW) พบว่า มีระดับของยีนสำหรับเอนไซม์ GPx ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม ในขณะที่ระดับการแสดงออกของยีนสำหรับเอนไซม์ catalase และ superoxide dismutase (SOD) ที่ทำหน้าที่ ต่อต้านสารอนุมูลอิสระ [54] ไม่พบความแตกต่างกัน ในแต่ละกลุ่ม ดังนั้นจึงสามารถบ่งชี้ได้ว่า เมื่อเกิดภาวะน้ำตาลในเลือดสูงจากโรคเบาหวานชนิดที่ 2 แล้ว จะทำให้เกิดภาวะ oxidative stress ในไตที่เพิ่มขึ้นและเกิดภาวะแทรกซ้อนทางไตจากภาวะเบาหวานระยะแรก (รูปที่ 25) ซึ่งเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ ต่อต้านสารอนุมูลอิสระ ต้องมีระบบควบคุมภาวะ oxidative stress ที่เกิดขึ้นในระยะแรกดังกล่าว โดยมีกลไกการตอบสนองด้วยการผลิตเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ดังกล่าวให้มากขึ้นด้วย แต่เมื่อภาวะน้ำตาลและภาวะ oxidative stress ลดลง จากผลของการให้สารสกัดสาหร่ายเตาความเข้มข้นสูง ระดับเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ต่อต้านสารอนุมูลอิสระจะสามารถกลับเข้าสู่ระดับปกติได้

นอกจากนี้จากการศึกษาที่ผ่านมาบ่งชี้ว่า เอนไซม์ NAD(P)H oxidase (NOX) มีความเกี่ยวข้องกับการเพิ่มขึ้นของสารอนุมูลอิสระในหนูที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดโรคเบาหวานชนิดที่ 2 [55] โดยเอนไซม์ NOX4 เป็นเอนไซม์หลักในการผลิตอนุมูลอิสระในไต และการให้ฮอร์โมนอินซูลิน



รูปที่ 26 ผลของสารสกัดสาหร่ายเตาต่อการทำงานของโปรตีนขนส่งสารอินทรีย์ประจุลบในไตของหนูขาวปกติเทียบกับหนูขาวที่มีภาวะเบาหวานชนิดที่ 2 ที่ได้รับและไม่ได้รับสารสกัดน้ำสาหร่ายเตาในขนาดต่างๆ โดยการใช้สารรังสี estrone sulfate (ES) (A) สารรังสี para-aminohippurate (PAH) (B) และเทคนิค quantitative reverse transcriptase polymerase chain reaction (qRT-PCR) (C)

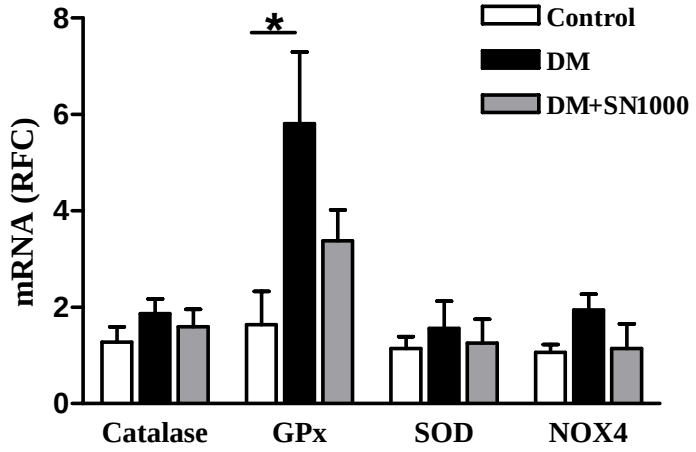


รูปที่ 27 ผลของสารสกัดสาหร่ายเตาต่อการทำงานของโปรตีนขนส่งสารอินทรีย์ประจุลบชนิดที่ 1 และ 3 ในสภาวะที่ถูกกระตุ้นด้วย Insulin โดยการวัดปริมาณสารรังสี para-aminohippurate (PAH) ในไตของหนูขาวปกติเทียบกับหนูขาวที่มีภาวะเบาหวานชนิดที่ 2 ที่ได้รับและไม่ได้รับสารสกัดสาหร่ายเตา (Spirogyra neglecta) ในขนาดความเข้มข้นสูง (1000 mg/kg BW) $P < 0.05$ * ไม่มี insulin stimulation เทียบกับ มี insulin stimulation

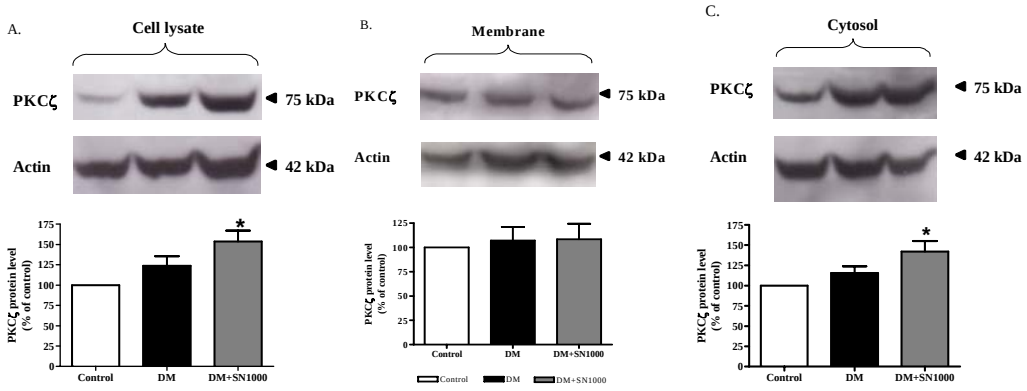
(insulin) สามารถลดการแสดงออกของเอนไซม์นี้ได้ [55] ซึ่งจากผลการทดลองครั้งนี้ พบข้อสังเกตว่า หนูขาวกลุ่มเบาหวานควบคุมร่วมกับการเกิดภาวะแทรกซ้อนทางไตในระยะแรก มีแนวโน้มที่เพิ่มขึ้นของการแสดงออกของยีน NOX4 ที่สูงขึ้นที่ไต (รูปที่ 28) ทั้งนี้อาจขึ้นอยู่กับความรุนแรงของภาวะแทรกซ้อนที่เกิดขึ้น

ผลของสารสกัดสาหร่ายเตา (SN) ต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณการแสดงออกของโปรตีนตัวกลางอื่นๆ ที่เกี่ยวข้องกับการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของ insulin และส่งผลต่อการทำงานของโปรตีนขนส่งสารอินทรีย์ประจุลบที่อยู่บนผนังเซลล์ของท่อไต

ผลการทดลองครั้งนี้พบว่า ในหนูขาวที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดโรคเบาหวานชนิดที่ 2 และสารสกัดสาหร่ายเตาความเข้มข้นสูง (1000 mg/kg BW) จะมีปริมาณของโปรตีน PKC ζ เพิ่มมากขึ้นในส่วนของ cell lysate (A) และ ส่วน cytosol (C) (รูปที่ 29) นอกจากนี้ยังพบว่าการแสดงออกของโปรตีน PKC ζ นี้ที่บริเวณผนังเซลล์ (membrane; B) ในกลุ่มหนูทุกกลุ่มไม่แตกต่างกัน ซึ่งแสดงถึง



รูปที่ 28 ผลของสารสกัดสาหร่ายเตาต่อการแสดงออกของยีนสำหรับเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับภาวะ Oxidative stress ในไตของหนูขาวปกติเทียบกับหนูขาวที่มีภาวะเบาหวานชนิดที่ 2 ที่ได้รับและไม่ได้รับสารสกัดสาหร่ายเตา (Spirogyra neglecta) ในขนาดความเข้มข้นสูง (1000 mg/kg BW): GPx; Glutathione peroxidase catalase, SOD; superoxide dismutase, NOX4; NAD(P)H oxidase 4; * $P < 0.05$ vs. control



รูปที่ 29 ผลของสารสกัดสาหร่ายเตาต่อการแสดงออกของโปรตีน PKC ζ ในส่วนต่างๆ ของเซลล์ โดยส่งผลโดยตรงต่อการทำงานของโปรตีนขนส่งสารอินทรีย์ประจุลบในไตของหนูขาวปกติเทียบกับหนูขาวที่มีภาวะเบาหวานชนิดที่ 2 ที่ได้รับและไม่ได้รับสารสกัดสาหร่ายเตา

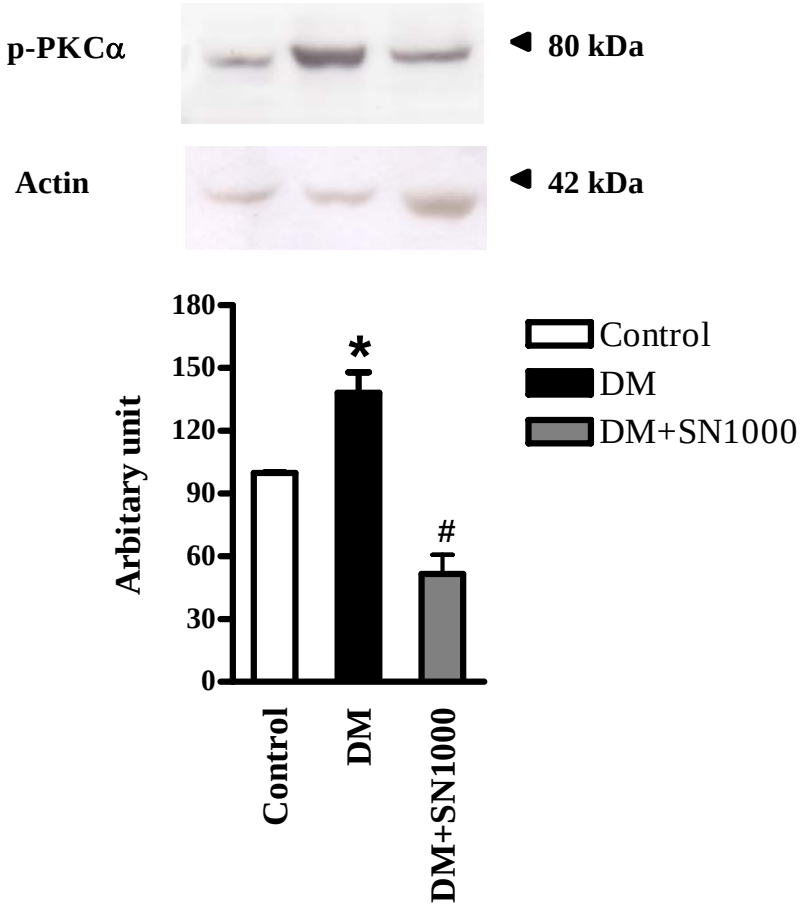
* $P < 0.05$ vs. control

การสร้างใหม่ของโปรตีน PKC ζ ที่เพิ่มขึ้นจริงเฉพาะภายในเซลล์ ในหนูกลุ่มเบาหวานที่ได้รับสารสกัดสาหร่ายเตาความเข้มข้นสูง (1000 mg/kg BW) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาที่ผ่านมา [39] ที่พบว่า PKC ζ ที่ถูกกระตุ้นโดย insulin จะไม่มีการเปลี่ยนแปลงปริมาณหรือการแสดงออกที่ผนังเซลล์ แต่จะมีการทำงานที่เพิ่มขึ้น (activation of PKC ζ) และยังสอดคล้องกับผลการทดลองครั้งนี้ในการวัดทำงานของโปรตีนขนส่งสารอินทรีย์ประจุลบที่อยู่บนผนังเซลล์ของท่อไต ในสภาวะที่ถูกกระตุ้นด้วย insulin (รูปที่ 27)

นอกจากนี้ ยังพบว่า หนูกลุ่มเบาหวานควบคุม จะมีปริมาณการแสดงออกของ phosphorylated protein kinase C alpha (p-PKCα) ที่เพิ่มขึ้น หรือหมายถึงการทำงานของโปรตีน PKCα ที่เพิ่มสูงขึ้น เนื่องจากภาวะ oxidative stress ซึ่งจะส่งผลถึงการทำงานของโปรตีนขนส่งประจุลบทั้ง 2 ชนิด เมื่อเปรียบเทียบกับ กลุ่มควบคุมและกลุ่มเบาหวานที่ได้รับสารสกัดสาหร่ายเตาความเข้มข้นสูง (1000 mg/kg BW) ที่มีค่าไม่แตกต่างกัน ซึ่งแสดงถึงภาวะ oxidative stress ที่ลดลง (รูปที่ 30) จึงสามารถสรุปได้ว่า สารสกัดสาหร่ายเตามีผลต่อส่งสัญญาณภายในเซลล์ของ insulin และส่งผลเพิ่มการทำงานของโปรตีนขนส่งประจุลบที่บริเวณผนังเซลล์ได้ในที่สุด โดยผ่านกลไกการเหนี่ยวนำให้เกิดการสร้างโปรตีนตัวกลาง PKCζ เพิ่มมากขึ้น และลดการทำงานของ PKCα

วิจารณ์ผลการทดลอง

สารสกัดสาหร่ายเตาขนาดสูง (1000 mg/kg BW) มีประสิทธิภาพสูงสุดในการช่วยลดภาวะแทรกซ้อนทางไตในระยะแรก โดยมีกลไกการออกฤทธิ์ผ่านทาง ระบบควบคุมสารต้านอนุมูลอิสระ (anti-oxidant system) ทั้งในการลดภาวะ oxidative stress (ผ่านทางกลไก ปฏิกิริยา lipid peroxidation, การแสดงออกของยีนสำหรับเอนไซม์ glutathione peroxidase, และลดการทำงานของโปรตีน PKCα) และเพิ่มโปรตีนตัวกลาง PKCζ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของ insulin (Insulin signaling cascade) จึงส่งผลเพิ่มการทำงานของโปรตีนขนส่งประจุลบที่บริเวณผนังเซลล์ของท่อไตได้ ทำให้การทำงานของไตดีขึ้นและลดความรุนแรงจากภาวะแทรกซ้อนทางไตจากโรคเบาหวานได้ในที่สุด



รูปที่ 30 ผลของสารสกัดสาหร่ายเตาต่อการแสดงออกของโปรตีน p-PKCα ที่ส่งผลต่อการทำงานของโปรตีนขนส่งสารอินทรีย์ประจุลบในไตของหนูขาวปกติเทียบกับหนูขาวที่มีภาวะเบาหวานชนิดที่ 2 ที่ได้รับและไม่ได้รับสารสกัดสาหร่ายเตา * $P < 0.05$ vs. control ; # $P < 0.05$ vs. DM

<u>กิจกรรมทางวิชาการ</u>

1. การเผยแพร่ความรู้สู่ชุมชน

คณะผู้วิจัยได้มีการจัดอบรมชาวบ้านและบุคลากรด้านสาธารณสุข เรื่อง การใช้สาหร่ายเตาเพื่อเป็นอาหารสุขภาพ จำนวน 2 ครั้ง ได้แก่

1) ณ ชุมชนบ้านหนองมะจับ หมู่1 ต.แม่แฝก อ.สันทราย จ.เชียงใหม่ ในวันที่ 27 พฤษภาคม พ.ศ. 2554 จำนวนชาวบ้านเข้าร่วมการอบรมทั้งสิ้น 37 คน

2) ณ บ้านแม่ลัว ต.ป่าแดง อ.เมือง จ.แพร่ ในวันที่ 28 พฤษภาคม พ.ศ. 2554 จำนวนอาสาสมัครสาธารณสุขหมู่บ้านเข้าร่วมการอบรมทั้งสิ้น 52 คน

การจัดอบรมทั้ง 2 ครั้งได้การตอบรับและผลการประเมินโครงการฝึกอบรมที่ดีจากผู้เข้าร่วมโครงการ (ตามเอกสารแนบ ในภาคผนวก)

รูปที่ 31 การจัดฝึกอบรมเผยแพร่ความรู้

2. การนำเสนอผลงานในระดับชาติและนานาชาติ

ผลการศึกษาวิจัยนี้ได้ถูกนำไปเสนอผลงานทางวิชาการในการประชุมระดับชาติและนานาชาติ จำนวน 2 ครั้ง ได้แก่

1) การประชุมสาหร่ายและแพลงก์ตอนแห่งชาติ ครั้งที่ 5 ณ โรงแรมบีพี สมิหลา บีช โฮเทล แอนด์ รีสอร์ท จ.สงขลา ระหว่างวันที่ 16-18 มีนาคม 2554 โดย ดร.นริศรา ไล้เลิศ เป็นผู้นำเสนอผลงานด้วยวาจา เรื่อง ศักยภาพในการรักษาภาวะเบาหวานของสารสกัดจากสาหร่ายเตาในหนูขาวที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดโรคเบาหวานด้วยอาหารไขมันสูงและสารสเตรปโตโซโตซิน

2) The 4th Asia Pacific ISSX Meeting, Tainan, Taiwan, April 22-25, 2011. โดย ดร.ชุติมา ศรีมะเริง เป็นผู้นำเสนอผลงานด้วยโปสเตอร์ เรื่อง The beneficial effects of Spirogyra neglecta extract on renal transport function in high-fat diet induced diabetic type 2 rats.

3. การผลิตนักศึกษาบัณฑิต

การศึกษาวิจัยนี้สามารถใช้เป็นงานวิจัยเพื่อวิทยานิพนธ์ของนักศึกษาบัณฑิตระดับปริญญาโท สาขาสรีรวิทยา จำนวน 2 คน

4. การจัดทำสื่อเผยแพร่ความรู้แก่บุคคลทั่วไป

คณะผู้วิจัยได้จัดทำโปสเตอร์และแผ่นพับ สำหรับแจกเพื่อเผยแพร่ความรู้แก่บุคคลทั่วไป ตามเอกสารแนบ

บทที่ 4
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

การศึกษาวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาการให้สารสกัดด้วยน้ำของสาหร่ายเตา (*Spirogyra neglecta*) ในขนาด 250, 500 และ 1000 mg/kg BW เป็นเวลา 12 สัปดาห์ โดยวิธีการป้อนทางปากแก่หนูขาวที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะเบาหวานชนิดที่ 2 ด้วยอาหารไขมันสูงและฉีด streptozotozin (STZ) เพื่อทดสอบผลและกลไกการออกฤทธิ์ในการลดระดับน้ำตาลในเลือดของสาหร่ายเตาและลดภาวะแทรกซ้อนระยะเริ่มแรกในไต หัวใจและหลอดเลือด ผลการศึกษาพบว่าสารสกัดสาหร่ายเตาขนาด1000 mg/kg BW มีประสิทธิภาพสูงสุดในการลดระดับน้ำตาลกลูโคส, ลดไขมัน triglyceride, free fatty acids และเพิ่ม HDL-C ในเลือด รวมทั้งช่วย improved glucose tolerance และ HOMA index ในหนูขาวเบาหวาน บ่งชี้ว่ามีการ improved insulin sensitivity โดยกลไกหนึ่งน่าจะเกี่ยวกับการ activated insulin signaling cascade ทำให้มีการเพิ่มขึ้นของการปรากฏ GLUT4 protein และในที่สุดส่งผลให้มีการเพิ่มขึ้นของกระบวนการ glucose uptake และเมื่อเปรียบเทียบผลดังกล่าวกับยา metformin ก็พบว่าประสิทธิภาพในการลดระดับของน้ำตาลและไขมันในเลือดของสารสกัดสาหร่ายเตาให้ผลดีเช่นเดียวกับยา metformin และวิตามินอี

สำหรับการศึกษาเกี่ยวกับภาวะแทรกซ้อนต่างๆที่สำคัญของโรคเบาหวาน พบว่าการให้สารสกัดสาหร่ายเตาขนาด1000 mg/kg BW แก่หนูขาวเบาหวาน มีผลช่วยลดภาวะแทรกซ้อนของหัวใจและหลอดเลือดที่พบในเบาหวานได้ โดยผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการให้สารสกัดของสาหร่ายเตามีผลช่วยเพิ่มการคลายตัวของหลอดเลือดที่ตอบสนองต่อ Acetylcholine ได้ดีขึ้น ซึ่งกลไกน่าจะเกี่ยวกับการช่วยให้การทำงานของหลอดเลือดผ่านทาง endothelial cell ดีขึ้น นอกจากนี้ยังมีผลลดความเสี่ยงต่อการเกิดภาวะหัวใจทำงานผิดปกติซึ่งกลไกเกี่ยวข้องกับการลดการเกิดภาวะ oxidative stress ในกล้ามเนื้อหัวใจ เนื่องจากการที่สารสกัดสาหร่ายเตามีผลลดระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือดจึงทำให้ลดการเกิด oxidative stress ในกล้ามเนื้อหัวใจในระดับโมเลกุล ซึ่งแสดงโดยผลการกระตุ้น p-PKCα และ NF-κB ที่เกิดจากภาวะ oxidative stressในกล้ามเนื้อหัวใจที่ลดลงในหนูเบาหวานที่ได้สารสกัดสาหร่ายเตาขนาดสูง

ส่วนสำหรับการศึกษาเกี่ยวกับภาวะแทรกซ้อนของเบาหวานในไต พบว่าสารสกัดสาหร่ายเตาขนาดสูง (1000 mg/kg BW) มีประสิทธิภาพสูงสุดในการช่วยลดภาวะแทรกซ้อนทางไตในระยะแรก โดยมีกลไกการออกฤทธิ์ผ่านทาง ระบบควบคุมสารต้านอนุมูลอิสระ (anti-oxidant system) ทั้งในการลดภาวะ oxidative stress (ผ่านทางกลไก ปฏิกิริยา lipid peroxidation, การแสดงออกของยีนสำหรับเอนไซม์ glutathione peroxidase, และลดการทำงานของโปรตีน PKCα) และเพิ่มโปรตีนตัวกลาง PKCζ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของ insulin (Insulin signaling cascade) จึงส่งผลเพิ่มการทำงานของโปรตีนขนส่งประจุลบที่บริเวณผนังเซลล์

ของท่อไตได้ ทำให้การทำงานของไตดีขึ้นและลดความรุนแรงจากภาวะแทรกซ้อนทางไต จากโรคเบาหวานได้ในที่สุด

จากผลการศึกษาทดลองแสดงให้เห็น**ศักยภาพของสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่ายเตาในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์อาหารสุขภาพ** เพื่อช่วยควบคุมระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือดและป้องกันภาวะแทรกซ้อนทางหัวใจ หลอดเลือดและไตที่เกิดจากเบาหวานชนิดที่ 2 ทั้งยังเป็นเพิ่มประสิทธิภาพในการรักษาผู้ป่วยเบาหวาน ทำให้สามารถลดค่าใช้จ่ายในการรักษาพยาบาล ลดการนำเข้าของยาจากต่างประเทศโดยการใช้สมุนไพรธรรมชาติที่มีอยู่ในประเทศได้อย่างคุ้มค่าและมีประโยชน์ที่สุด

บรรณานุกรม

Bibliography

1. Wolff SP, Dean RT: **Glucose autoxidation and protein modification. The potential role of 'autoxidative glycosylation' in diabetes.** *The Biochemical journal* 1987, **245:**243-250.
2. Simmons K: **Defense against free radicals has therapeutic implications.** *JAMA : the journal of the American Medical Association* 1984, **251:**2187, 2191-2182.
3. Association. AD: **Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus.** *Diabetes Care* 2001, **24:**S5-S10.
4. De Vriese AS, Verbeuren TJ, Van de Voorde J, Lameire NH, Vanhoutte PM: **Endothelial dysfunction in diabetes.** *British journal of pharmacology* 2000, **130:**963-974.
5. M T, H.A. C, H.C. P: **Regulation of Vascular Smooth Muscle Relaxation by the Endothelium in Health and in Diabetes (with a Focus on Endothelium-Derived Hyperpolarizing Factor)** *Neurophysiology* 2003, **35:**256-261.
6. Diederich D, Skopec J, Diederich A, Dai FX: **Endothelial dysfunction in mesenteric resistance arteries of diabetic rats: role of free radicals.** *The American journal of physiology* 1994, **266:**H1153-1161.
7. Sanz E, Fernandez N, Monge L, Climent B, Dieguez G, Garcia-Villalon AL: **Relaxation by urocortin of rat renal arteries: effects of diabetes in males and females.** *Cardiovascular research* 2003, **58:**706-711.
8. Han HJ, Lee YJ, Park SH, Lee JH, Taub M: **High glucose-induced oxidative stress inhibits Na+/glucose cotransporter activity in renal proximal tubule cells.** *American journal of physiology Renal physiology* 2005, **288:**F988-996.
9. Lelkes E, Unsworth BR, Lelkes PI: **Reactive oxygen species, apoptosis and altered NGF-induced signaling in PC12 pheochromocytoma cells cultured in elevated glucose: an in vitro cellular model for diabetic neuropathy.** *Neurotoxicity research* 2001, **3:**189-203.
10. Bertacca A, Ciccarone A, Cecchetti P, Vianello B, Laurenza I, Maffei M, Chiellini C, Del Prato S, Benzi L: **Continually high insulin levels impair Akt phosphorylation and**

glucose transport in human myoblasts. *Metabolism: clinical and experimental* 2005, **54:**1687-1693.

11. Zeng G, Quon MJ: **Insulin-stimulated production of nitric oxide is inhibited by wortmannin. Direct measurement in vascular endothelial cells.** *The Journal of clinical investigation* 1996, **98:**894-898.
12. Jersmann HP, Hii CS, Ferrante JV, Ferrante A: **Bacterial lipopolysaccharide and tumor necrosis factor alpha synergistically increase expression of human endothelial adhesion molecules through activation of NF-kappaB and p38 mitogen-activated protein kinase signaling pathways.** *Infection and immunity* 2001, **69:**1273-1279.
13. Madonna R, De Caterina R: **Prolonged exposure to high insulin impairs the endothelial PI3-kinase/Akt/nitric oxide signalling.** *Thrombosis and haemostasis* 2009, **101:**345-350.
14. Dantzler WH, Evans KK, Wright SH: **Kinetics of interactions of para-aminohippurate, probenecid, cysteine conjugates and N-acetyl cysteine conjugates with basolateral organic anion transporter in isolated rabbit proximal renal tubules.** *J Pharmacol Exp Ther* 1995, **272:**663-672.
15. Pritchard JB, Miller DS: **Mechanisms mediating renal secretion of organic anions and cations.** *Physiol Rev* 1993, **73:**765-796.
16. Bae SK, Kang HE, Kang MK, Kim JW, Kim T, Lee MG: **Pharmacokinetics of oltipraz in mutant Nagase analbuminemic rats.** *J Pharm Sci* 2006, **95:**998-1005.
17. Kim YC, Oh EY, Kim SH, Lee MG: **Pharmacokinetics and pharmacodynamics of intravenous torasemide in diabetic rats induced by alloxan or streptozotocin.** *Biopharm Drug Dispos* 2005, **26:**371-378.
18. Park JH, Lee WI, Yoon WH, Park YD, Lee JS, Lee MG: **Pharmacokinetic and pharmacodynamic changes of furosemide after intravenous and oral administration to rats with alloxan-induced diabetes mellitus.** *Biopharm Drug Dispos* 1998, **19:**357-364.
19. Park JM, Moon CH, Lee MG: **Pharmacokinetic changes of methotrexate after intravenous administration to streptozotocin-induced diabetes mellitus rats.** *Res Commun Mol Pathol Pharmacol* 1996, **93:**343-352.

20. Grover B, Buckley D, Buckley AR, Cacini W: **Reduced expression of organic cation transporters rOCT1 and rOCT2 in experimental diabetes.** *J Pharmacol Exp Ther* 2004, **308:**949-956.

21. Thomas MC, Tikellis C, Burns WC, Thallas V, Forbes JM, Cao Z, Osicka TM, Russo LM, Jerums G, Ghabrial H, et al: **Reduced tubular cation transport in diabetes: prevented by ACE inhibition.** *Kidney Int* 2003, **63:**2152-2161.

22. Thomas MC, Jerums G, Tsalamandris C, MacIsaac R, Panagiotopoulos S, Cooper ME: **Increased tubular organic ion clearance following chronic ACE inhibition in patients with type 1 diabetes.** *Kidney Int* 2005, **67:**2494-2499.

23. Han HJ, Lee YJ, Park SH, Lee JH, Taub M: **High glucose-induced oxidative stress inhibits Na+/glucose cotransporter activity in renal proximal tubule cells.** *Am J Physiol Renal Physiol* 2005, **288:**F988-996.

24. Dunlop M: **Aldose reductase and the role of the polyol pathway in diabetic nephropathy.** *Kidney Int Suppl* 2000, **77:**S3-12.

25. Ha H, Lee HB: **Oxidative stress in diabetic nephropathy: basic and clinical information.** *Curr Diab Rep* 2001, **1:**282-287.

26. Gekle M, Mildenberger S, Sauvant C, Bednarczyk D, Wright SH, Dantzler WH: **Inhibition of initial transport rate of basolateral organic anion carrier in renal PT by BK and phenylephrine.** *Am J Physiol* 1999, **277:**F251-256.

27. Shuprisha A, Lynch RM, Wright SH, Dantzler WH: **PKC regulation of organic anion secretion in perfused S2 segments of rabbit proximal tubules.** *Am J Physiol Renal Physiol* 2000, **278:**F104-109.

28. Wolff NA, Thies K, Kuhnke N, Reid G, Friedrich B, Lang F, Burckhardt G: **Protein kinase C activation downregulates human organic anion transporter 1-mediated transport through carrier internalization.** *J Am Soc Nephrol* 2003, **14:**1959-1968.

29. You G, Kuze K, Kohanski RA, Amsler K, Henderson S: **Regulation of mOAT-mediated organic anion transport by okadaic acid and protein kinase C in LLC-PK(1) cells.** *J Biol Chem* 2000, **275:**10278-10284.

30. พีรพรพิศาล ย, อมรเลิศพิศาล ด, กาญจณโพธิ์ ด, แต้โสถิกุล ธ, พงษ์ไพบูลย์ ญ, ตงศิริ ส: รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์โครงการ "ศักยภาพของสาหร่ายน้ำจืดขนาดใหญ่ในการเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารและเวชสำอาง". สำนักคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ 2552.

31. Gustafson KR, Cardellina JH, 2nd, Fuller RW, Weislow OS, Kiser RF, Snader KM, Patterson GM, Boyd MR: **AIDS-antiviral sulfolipids from cyanobacteria (blue-green algae).** *Journal of the National Cancer Institute* 1989, **81:**1254-1258.

32. Tokuda H, Nishino H, Shirahashi H, Murakami N, Nagatsu A, Sakakibara J: **Inhibition of 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate promoted mouse skin papilloma by digalactosyl diacylglycerols from the fresh water cyanobacterium Phormidium tenue.** *Cancer letters* 1996, **104:**91-95.

33. GS J, DI G, C. D: **Blue-green algae as an immuno-enhancer and biomodulator. .** *J Amer Nutraceut Assoc* 2001 **3:**24-30

34. ปัญโญใหญ่ ฐ: กิจกรรมต้านออกซิเดชันของสาหร่ายเตา **Spirogyra neglecta (Hassall) Kutzing = Antioxidant activity of Tao, Spirogyra neglecta (Hassall) Kutzing.** มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, ชีววิทยา 2551.

35. Sachindra NM, Sato E, Maeda H, Hosokawa M, Niwano Y, Kohno M, Miyashita K: **Radical scavenging and singlet oxygen quenching activity of marine carotenoid fucoxanthin and its metabolites.** *Journal of agricultural and food chemistry* 2007, **55:**8516-8522.

36. DuBois M, K.A. G, J.K. H, P.A. R, F. S: **Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances.** *Analytical Chemistry* 1956, **28:**350-356.

37. Craigie JS, Wen ZC: **Effects of temperature and tissue age on gel strength and composition of agar from Gracilaria tikvahiae (Rhodophyceae).** *Canadian Journal of Botany* 1984, **62:**1665-1670.

38. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C: **Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay.** *Free radical biology & medicine* 1999, **26:**1231-1237.

39. Barros SA, Srimaroeng C, Perry JL, Walden R, Dembla-Rajpal N, Sweet DH, Pritchard JB: **Activation of protein kinase Czeta increases OAT1 (SLC22A6)- and OAT3 (SLC22A8)-mediated transport.** *The Journal of biological chemistry* 2009, **284:**2672-2679.

40. Sauvant C, Holzinger H, Gekle M: **Short-term regulation of basolateral organic anion uptake in proximal tubular OK cells: EGF acts via MAPK, PLA(2), and COX1.** *Journal of the American Society of Nephrology : JASN* 2002, **13:**1981-1991.

41. Sauvant C, Holzinger H, Gekle M: **Modulation of the basolateral and apical step of transepithelial organic anion secretion in proximal tubular opossum kidney cells. Acute effects of epidermal growth factor and mitogen-activated protein kinase.** *The Journal of biological chemistry* 2001, **276:**14695-14703.

42. Srinivasan K, Viswanad B, Asrat L, Kaul CL, Ramarao P: **Combination of high-fat diet-fed and low-dose streptozotocin-treated rat: a model for type 2 diabetes and pharmacological screening.** *Pharmacological research : the official journal of the Italian Pharmacological Society* 2005, **52:**313-320.

43. Reed MJ, Meszaros K, Entes LJ, Claypool MD, Pinkett JG, Gadbois TM, Reaven GM: **A new rat model of type 2 diabetes: the fat-fed, streptozotocin-treated rat.** *Metabolism: clinical and experimental* 2000, **49:**1390-1394.

44. Hundal HS, Ramlal T, Reyes R, Leiter LA, Klip A: **Cellular mechanism of metformin action involves glucose transporter translocation from an intracellular pool to the plasma membrane in L6 muscle cells.** *Endocrinology* 1992, **131:**1165-1173.

45. Liao Z, Chen X, Wu M: **Antidiabetic effect of flavones from Cirsium japonicum DC in diabetic rats.** *Archives of pharmacal research* 2010, **33:**353-362.

46. Asare GA, Sittie A, Bugyei K, Gyan BA, Adjei S, Addo P, Wiredu EK, Nyarko AK, Otu-Nyarko LS, Adjei DN: **Acute toxicity studies of Croton membranaceus root extract.** *Journal of ethnopharmacology* 2011, **134:**938-943.

47. Benito M: **Tissue specificity on insulin action and resistance: past to recent mechanisms.** *Acta physiologica* 2011, **201:**297-312.

48. Ding SY, Shen ZF, Chen YT, Sun SJ, Liu Q, Xie MZ: **Pioglitazone can ameliorate insulin resistance in low-dose streptozotocin and high sucrose-fat diet induced obese rats.** *Acta pharmacologica Sinica* 2005, **26:**575-580.

49. G B: **Free fatty acids as target for therapy.** *Current Opinion in Endocrinology & Diabetes* 2004, **11:**258-263.

50. Dresner A, Laurent D, Marcucci M, Griffin ME, Dufour S, Cline GW, Slezak LA, Andersen DK, Hundal RS, Rothman DL, et al: **Effects of free fatty acids on glucose transport and IRS-1-associated phosphatidylinositol 3-kinase activity.** *The Journal of clinical investigation* 1999, **103:**253-259.

51. Rosen P, Nawroth PP, King G, Moller W, Tritschler HJ, Packer L: **The role of oxidative stress in the onset and progression of diabetes and its complications: a summary of a Congress Series sponsored by UNESCO-MCBN, the American Diabetes Association and the German Diabetes Society.** *Diabetes/metabolism research and reviews* 2001, **17:**189-212.

52. Karasu C: **Glycoxidative stress and cardiovascular complications in experimentally-induced diabetes: effects of antioxidant treatment.** *The open cardiovascular medicine journal* 2010, **4:**240-256.

53. Limaye PV, Raghuram N, Sivakami S: **Oxidative stress and gene expression of antioxidant enzymes in the renal cortex of streptozotocin-induced diabetic rats.** *Molecular and cellular biochemistry* 2003, **243:**147-152.

54. Mates JM, Perez-Gomez C, Nunez de Castro I: **Antioxidant enzymes and human diseases.** *Clinical biochemistry* 1999, **32:**595-603.

55. Edlund J, Fasching A, Liss P, Hansell P, Palm F: **The roles of NADPH-oxidase and nNOS for the increased oxidative stress and the oxygen consumption in the diabetic kidney.** *Diabetes/metabolism research and reviews* 2010, **26:**349-356.

ภาคผนวก

(Appendix)

1. ผลการประเมินโครงการฝึกอบรมถ่ายทอดเทคโนโลยีและความรู้

แบบสอบถามความคิดเห็น

โครงการฝึกอบรม "การใช้สาหร่ายเตาเพื่อเป็นอาหารสุขภาพ"

วันที่ 27 พฤษภาคม พ.ศ. 2554

ณ ชุมชนบ้านหนองมะจับ หมู่1 ต.แม่แฝก อ.สันทราย จ.เชียงใหม่

……..

ตอนที่ 1 ข้อมูลทั่วไปของผู้ตอบแบบสอบถาม

1. เพศ ☐ ชาย ☐ หญิง

2. อายุ.....ปี

3. อาชีพ.....

ตอนที่ 2 ความคิดเห็นเกี่ยวกับการจัดโครงการฝึกอบรม

ทำเครื่องหมาย ✓ แสดงถึงระดับความพึงพอใจตามความเห็นของท่าน

5 หมายถึง ดีมาก

4 หมายถึง ดี

3 หมายถึง ปานกลาง

2 หมายถึง น้อย

1 หมายถึง น้อยที่สุด

ลำดับ	การจัดโครงการฯ	ระดับความคิดเห็น				
		5	4	3	2	1
1.	ความเหมาะสมและความพร้อมของสถานที่					
2.	ระยะเวลาในการจัดโครงการฯ					
3.	หัวข้อเรื่องการบรรยายในโครงการฯ					
4.	ความสามารถถ่ายทอดความรู้ของวิทยากร					
5.	เอกสารประกอบการจัดโครงการฯ					
6.	การติดต่อแจ้งข่าวสารในการจัดโครงการฯ					
7.	การดำเนินงานและประสานงานของผู้จัดโครงการฯ					
8.	สามารถนำความรู้ที่ได้รับไปใช้ประโยชน์ได้					
9.	อาหารกลางวันและอาหารว่างในการอบรม					

ข้อเสนอแนะเพิ่มเติม

.....

~* ขอบพระคุณทุกท่าน ที่ให้ความร่วมมือในการตอบแบบสอบถาม *~

แบบสอบถามความคิดเห็น

โครงการฝึกอบรม "การใช้สาหร่ายเตาเพื่อเป็นอาหารสุขภาพ"

วันที่ 28 พฤษภาคม พ.ศ. 2554

ณ บ้านแม่ลัว ต.ป่าแดง อ.เมือง จ.แพร่

……..

ตอนที่ 1 ข้อมูลทั่วไปของผู้ตอบแบบสอบถาม

1. เพศ ☐ ชาย ☐ หญิง

2. อายุ.....ปี

3. อาชีพ.....

ตอนที่ 2 ความคิดเห็นเกี่ยวกับการจัดโครงการฝึกอบรม

ทำเครื่องหมาย ✓ แสดงถึงระดับความพึงพอใจตามความเห็นของท่าน

5	หมายถึง	ดีมาก
4	หมายถึง	ดี
3	หมายถึง	ปานกลาง
2	หมายถึง	น้อย
1	หมายถึง	น้อยที่สุด

ลำดับ	การจัดโครงการฯ	ระดับความคิดเห็น				
		5	4	3	2	1
1.	ความเหมาะสมและความพร้อมของสถานที่					
2.	ระยะเวลาในการจัดโครงการฯ					
3.	หัวข้อเรื่องการบรรยายในโครงการฯ					
4.	ความสามารถถ่ายทอดความรู้ของวิทยากร					
5.	เอกสารประกอบการจัดโครงการฯ					
6.	การติดต่อแจ้งข่าวสารในการจัดโครงการฯ					
7.	การดำเนินงานและประสานงานของผู้จัดโครงการฯ					
8.	สามารถนำความรู้ที่ได้รับไปใช้ประโยชน์ได้					
9.	อาหารกลางวันและอาหารว่างในการอบรม					

ข้อเสนอแนะเพิ่มเติม

.....……

…….....

~* ขอบพระคุณทุกท่าน ที่ให้ความร่วมมือในการตอบแบบสอบถาม *~

ผลการประเมินการจัดโครงการฝึกอบรม "การใช้สาหร่ายเตาเพื่อเป็นอาหารสุขภาพ"

ครั้งที่ 1 วันที่ 27 พฤษภาคม พ.ศ. 2554

ลำดับ	การจัดโครงการฯ	ระดับความคิดเห็นที่ได้รับ
1.	ความเหมาะสมและความพร้อมของสถานที่	4.7 ± 0.4
2.	ระยะเวลาในการจัดโครงการฯ	4.0 ± 0.7
3.	หัวข้อเรื่องการบรรยายในโครงการฯ	4.5 ± 0.7
4.	ความสามารถถ่ายทอดความรู้ของวิทยากร	4.6 ± 0.6
5.	เอกสารประกอบการจัดโครงการฯ	4.3 ± 0.7
6.	การติดต่อแจ้งข่าวสารในการจัดโครงการฯ	4.3 ± 0.8
7.	การดำเนินงานและประสานงานของผู้จัดโครงการฯ	4.5 ± 0.6
8.	สามารถนำความรู้ที่ได้รับไปใช้ประโยชน์ได้	4.5 ± 0.7
9.	อาหารกลางวันและอาหารว่างในการอบรม	4.5 ± 0.7

ครั้งที่ 2 วันที่ 28 พฤษภาคม พ.ศ. 2554

ลำดับ	การจัดโครงการฯ	ระดับความคิดเห็นที่ได้รับ
1.	ความเหมาะสมและความพร้อมของสถานที่	4.2 ± 0.8
2.	ระยะเวลาในการจัดโครงการฯ	4.2 ± 0.8
3.	หัวข้อเรื่องการบรรยายในโครงการฯ	4.8 ± 0.4
4.	ความสามารถถ่ายทอดความรู้ของวิทยากร	4.7 ± 0.5
5.	เอกสารประกอบการจัดโครงการฯ	4.3 ± 0.5
6.	การติดต่อแจ้งข่าวสารในการจัดโครงการฯ	4.2 ± 0.4
7.	การดำเนินงานและประสานงานของผู้จัดโครงการฯ	4.4 ± 0.8
8.	สามารถนำความรู้ที่ได้รับไปใช้ประโยชน์ได้	4.7 ± 0.5
9.	อาหารกลางวันและอาหารว่างในการอบรม	4.5 ± 0.5

2. บทคัดย่อการนำเสนอผลงานในระดับชาติและนานาชาติ

ศักยภาพในการรักษาภาวะเบาหวานของสารสกัดจากสาหร่ายเตาในหนูขาวที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดโรคเบาหวานด้วยอาหารไขมันสูงและสารสเตรปโตโซโตซิน

นริศรา ไล้เลิศ[1], อัญชลี พงศ์ชัยเดชา[1], ดวงพร อมรเลิศพิศาล[3], ชุติมา ศรีมะเริง[1], อนุสรณ์ ลังกาพินธุ์[1], ณัฐิณี จิตรประเวศ[1], โสฏิฏา อภิชัย[1], วรัญญา เก๋อาภัย[1]และ ยุวดี พีรพรพิศาล[2]

[1]ภาควิชาสรีรวิทยา คณะแพทยศาสตร์ ม.เชียงใหม่ อ.เมือง จ.เชียงใหม่ 50200 nlailerd@mail.med.cmu.ac.th

[2]ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ ม.เชียงใหม่อ.เมือง จ.เชียงใหม่ 50200

[3] คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ ม.แม่โจ้ อ.สันทราย จ.เชียงใหม่ 50210

บทคัดย่อ

การศึกษานี้เกี่ยวกับฤทธิ์ในการลดระดับน้ำตาลกลูโคสและไขมันในเลือดของสารสกัดจากสาหร่ายเตา (*Spirogyra neglecta*) ในหนูที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดโรคเบาหวานด้วยอาหารไขมันสูงและสารสเตรปโตโซโตซิน การให้สารสกัดด้วยน้ำจากสาหร่ายเตาในขนาด 1000 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวันในหนูที่มีภาวะเบาหวานเป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่าสามารถลดระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือดและพื้นที่ใต้กราฟของกลูโคสจากการทดสอบความทนทานต่อกลูโคสทางปากได้อย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้ยังพบว่าระดับไขมันอิสระในเลือดของหนูเบาหวานมีค่าลดลงเข้าสู่ระดับปกติอีกด้วย ส่วนการศึกษาเกี่ยวกับการขนส่งสารเอสโตนซัลเฟตผ่านทางโปรตีนขนส่งประจุลบชนิดที่ 3 ในเนื้อเยื่อไตของหนูเบาหวานพบว่ามีค่าลดลงซึ่งบ่งถึงความผิดปกติของการทำงานของไตในระยะเริ่มแรก และเมื่อให้สารสกัดจากสาหร่ายเตาในหนูที่มีภาวะเบาหวานพบว่าการขนส่งสารเอสโตนซัลเฟตเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ สอดคล้องกับการลดลงของยีนตั้งต้นของเอนไซม์ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เช่นซุบเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเตส คาตาเลสและกลูต้าไธโอนเปอร์ออกซิเดส จากผลการศึกษาดังกล่าวแสดงให้เห็นถึงศักยภาพของสารสกัดจากสาหร่ายเตาในการนำไปใช้รักษาในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 และภาวะแทรกซ้อนจากโรคเบาหวานที่เกี่ยวข้องกับภาวะไขมันในเลือดสูงและภาวะเครียดออกซิเดชั่น

คำสำคัญ: สาหร่ายเตา, โรคเบาหวาน, ภาวะน้ำตาลในเลือดสูง, ภาวะเครียดออกซิเดชั่น

Antidiabetic Potentiality of the Aqueous Extract of *Spirogyra neglecta* in high fat diet and streptozotocin-induced type2 diabetic rats

Narissara Lailerd[*1], Anchalee Pongchaidacha[1], Doungporn Amormledpison[3], Chutima Srimaroeng[1], Anusorn Lungkapin[1], Nattinee Jitprawet[1], Sopida Apichai[1], Waranya Keapai[1], and Yuwadee Peerapornpisal[2]

[1]Department of Physiology, Faculty of Medicine, [2] Department of Biology, Faculty of Science, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

[3]Faculty of Fisheries Technology and Aquatic Resources, Maejo University, Chiang Mai 50210, Thailand

* Corresponding Author: nlailerd@mail.med.cmu.ac.th

Abstract

Antidiabetic and antihyperlipidemic effects of the aqueous extract of *Spirogyra neglecta* was evaluated in high fat diet and streptozotocin-induced type2 diabetic rats. The diabetic male Wistar rats, induced by injection of STZ (40 mg/kg intraperitoneally), were fed a fat-rich diet (60% calorie from fat). Feeding with extract (1000 mg^{-1}1000 g $b.w.^{-1}rat^{-1}day^{-1}$) for 12 weeks to diabetic rats significantly lowered the plasma glucose levels as well as the area under the curve for glucose from the oral glucose tolerance test. Moreover, the plasma FFA levels were corrected towards the control rats. Furthermore, the aqueous extract of *Spirogyra neglecta* supplement significantly enhanced the estrone sulfate transport mediated by rOct3, which act as the indicator of early stage of nephropathy, in diabetic rats where correlated with decreased renal super oxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase mRNA expression. These results indicated the potentiality of the aqueous extract of *Spirogyra neglecta* for the correction of type 2 diabetes mellitus and its related complications like oxidative stress, hyperlipidemia and diabetic nephropathy. This extract may be good candidate for promising neutraceutical treatment for the management of diabetes.

Keywords: *Spirogyra neglecta*, diabetes mellitus, hyperglycemia, oxidative stress

The beneficial effects of *Spirogyra neglecta* extract on renal transport function in high-fat diet induced Diabetic type II rats

Chutima Srimaroeng[1], Atcharaporn Ontawong[1], Manunya Arjinacharn[1], Narissara Lailerd[1], Anchalee Pongchaidecha[1], Anusorn Lungkaphin[1] and Pornpun Vivithanaporn[2]

[1] Department of Physiology, Faculty of Medicine, Chiangmai University, Chiangmai, Thailand and [2] Department of Pharmacology, Faculty of Science, Mahidol University, Bangkok, Thailand

Spirogyra neglecta has been widely grown in the Nan River, Northern Thailand. Previous *in vitro* studies indicate that this species has several beneficial effects, including anti-gastric ulcer, anti-inflammatory, analgesic, hypotensive, and anti-oxidant effects, and may subsequently be useful for applying as therapeutic drugs and/or food supplements. Nevertheless, the studies on the physiological roles of these algae remain uncertain. Diabetes mellitus (DM) is a group of metabolic diseases characterized by hyperglycemia, resulting in abnormality of insulin secretion, insulin action, or both. Several DM complications have been shown, such as retinopathy, peripheral neuropathy and nephropathy. These complications could finally lead to end-stage renal failure. Furthermore, the excessive production of reactive oxygen species (ROS) or oxidative stress has been suggested as the common cause of DM-associated nephropathy. Previous studies have reported that experimental DM animals has reduced expression and function of renal organic cation transporters (OCTs), together with the changes in renal organic anion (OA) transport function. However, there is no information regarding the physiological roles of *Spirogyra neglecta* on diabetic nephropathy. Therefore, the present study aims to elucidate the beneficial effects of *Spirogyra neglecta extract* on renal organic transport function and to identify the mechanisms involving the function of OATs in diabetic type II rats induced by a high-fat diet. In this study, the rats were induced to DM type II condition by feeding with 60% high-fat diet with a single dose of streptozotocin injection (35 mg/kg BW). Two weeks after the streptozotocin administration, the rats with blood glucose exceeding 250 mg% were classified as a DM type II group. The high-fat diet induced DM type II rats were then fed daily with *Spirogyra neglecta extract* for 10-12 weeks and designated as a treated group. The DM type II rats were confirmed by hyperglycemia and hyperlipidimia. Moreover, the significant increases of renal malondialdehyde (MDA) concentration, superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT),

glutathione peroxidase (GPx) mRNA expression and the impairment of Oat3 regulation by blunting insulin-stimulated estrone sulfate (ES) transport in rat renal cortical slices were also shown in the DM type II rats, representing the early stage of diabetic nephropathy. Although Oat3 basal transport function was not changed both in the normal and DM type II groups, it was significantly increased in the *Spirogyra neglecta* treated group, implying the changes in intracellular signalings that may lead to an increase in basal Oat3 activity. Consistently, the expression of cell lysate and cytosolic PKC zeta (PKCz), the modulator of Oat3, was increased while membrane PKCz was unchanged, suggesting that new PKCz protein stimulated basal Oat3. Thus, these findings indicate that the early stage of diabetic nephropathy in experimental rats induced by high-fat diet was linked to oxidative stress, and *Spirogyra neglecta* may restore Oat3 function and regulation by changing the intracellular signaling mechanism.

3. การจัดทำสื่อแผ่นพับเพื่อเผยแพร่ความรู้แก่บุคคลทั่วไป

ประวัติคณะผู้วิจัย

(1) <u>ประวัติหัวหน้าโครงการวิจัย</u>

1. ชื่อ - นามสกุล (ภาษาไทย) : นางสาวนริศรา ไล้เลิศ
   ชื่อ - นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) : Miss Narissara Lailerd
2. เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน : 3 5499 00144 56 2
3. ตำแหน่งปัจจุบัน : อาจารย์ ระดับ 7
4. หน่วยงานที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้สะดวก พร้อมหมายเลขโทรศัพท์ โทรสาร และ e-mail
   ภาควิชาสรีรวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
   โทรศัพท์ 0-5394-5362-4
   โทรสาร 0-5394-5368
   e-mail : nlailerd@mail.med.cmu.ac.th
5. ประวัติการศึกษา

2004	Ph.D. (Physiology), Mahidol University, Bangkok, Thailand
1995	Master of Science (Physiology), Chiang Mai University, Chiang Mai, Thailand
1990	Bachelor of Science (Nursing and Midwifery), Chiang Mai University, Chiang Mai, Thailand

Special training :

2002-2003	Visiting student at Department of Physiology, College of Medicine, University of Arizona , AZ , USA

6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชาการ
   Endocrinology : Mechanism of antihyperglycemic action of Herbs, Glucose uptake study
   Cardiovascular : cardiac biomarkers
7. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ โดยระบุสถานภาพในการทำการวิจัยว่าเป็นผู้อำนวยการแผนงานวิจัย หัวหน้าโครงการวิจัย หรือผู้ร่วมวิจัยในแต่ละข้อเสนอการวิจัย

7.1 หัวหน้าโครงการวิจัย : ชื่อโครงการวิจัย

1).ทุนวิจัยเรื่องผลของสารสกัดขมิ้นชันต่อสภาวะระบบประสาทอัตโนมัติในหัวใจของหนูขาวที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะดื้อต่ออินซูลินโดยอาหารไขมันสูง (ขนาดของสารสกัดขมิ้นชัน 30 mg/kg BW)

แหล่งทุน: สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

2). ทุนวิจัยเรื่องการศึกษาระดับของ MMP-2, MMP-9 และ TIMP-1 ในเลือดของผู้ป่วยไทยที่มีภาวะกล้ามเนื้อหัวใจตายเฉียบพลัน

แหล่งทุน: นักวิจัยหน้าใหม่ สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.)

7.2 งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว : ชื่อผลงานวิจัย ปีที่พิมพ์ การเผยแพร่ และแหล่งทุน (อาจมากกว่า 1 เรื่อง)

1. **Lailerd N** , Pongchaidecha A, Boonnayathap U, Chaiwan B, Mattayabun S. Effects of exercise and diabetic condition on gastrointestinal transit and glucose homeostasis in rats. *Thai J Physiol Sci* 1996; 9(1):45

แหล่งทุนจากกองทุนสนับสนุนการวิจัย คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

2. **Lailerd N** , Saengsirisuwan V, Sloniger JA, Toskulkao C, Henriksen EJ. Effects of stevioside on glucose transport activity in insulin-sensitive and insulin-resistant rat skeletal muscle. *Metabolism* 2004;53(1):101-107 45

แหล่งทุนจากทบวงมหาวิทยาลัยและบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยมหิดล

3. Sloniger JA, Saengsirisuwan V, Diehl CJ, Dokken BB, **Lailerd N** , Lemieux AM, Kim JS, Henriksen EJ. Defective Insulin Signaling in Skeletal Muscle of the Hypertensive TG (mREN2)27 Rat. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2005 Jun;288(6):E1074-81.

แหล่งทุนจาก Grant-in-Aid 0256016Z from the Pacific Mountain Affiliate of the American Heart Association to E. J. Henriksen.

4. **Lailerd N**, Boonkaewwan C V, Toskulkao C, Henriksen EJ. Improvement of skeletal muscle glucose transport activity by stevioside in Type 2 diabetic rats. The 3rd Annual World Congress on the Insulin Resistance Syndrome. Diabetes & Vascular Disease Research 2005: 2(3); 52. (abstract)

แหล่งทุนจาก ทบวงมหาวิทยาลัย

5. Pongchaidecha A, **Lailerd N**, Boonprasert W, Chattipakorn N. Effects of curcuminoids supplement on cardiac status in high fat-induced obese rats. Europace Supplements 2007; 9(3) June: iii118.

แหล่งทุนจากกองทุนสนับสนุนการวิจัย คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

6. **Lailerd N**, Pattrajaree W, Kuanprasert S, Chattipakorn N. Curcuminoids supplement in acute myocardial infarction: Analyses of heart rate variability and plasma activity of MMP-2 and MMP-9. Europace Supplements 2007; 9(3) June: iii119. (abstract)

แหล่งทุนจากกองทุนสนับสนุนการวิจัย คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

7. Kanlop N, **Lailerd N**, Chattipakorn S, Chattipakorn N. Effects of sidenafil citrate on the inducibility of ventricular arrhythmia. Europace Supplements 2007; 9(3) June: iii147. (abstract)

แหล่งทุนจาก ทุนพัฒนานักวิจัยรุ่นใหม่ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

8. Boonprasert P, **Lailerd N**, **Chattipakorn N**. Urocortins in heart failure and ischemic heart disease. *Int J Cardiol* 2008;Jan 2.

9. Kanlop N, Shinlapawittayatorn K, Sungnoon R, Chattipakorn S, **Lailerd N**, Chattipakorn N. Sildenafil citrate on the inducibility of ventricular fibrillation and upper limit of vulnerability in swine. *Med Sci Monit* 2008; 14(10): BR205-209.

แหล่งทุนจาก ทุนพัฒนานักวิจัยรุ่นใหม่ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

10. Kusirisin W, Srichairatanakool S, Lerttrakarnnon P, **Lailerd N**, Suttajit M, Jaikang C, Chaiyasut C. Antioxidative activity, polyphenolic content and anti-glycation effect of some Thai medicinal plants traditionally used in diabetic patients. *Med Chem* 2009;5(2):139-147.

11. Pongchaidecha A, **Lailerd N**, Boonprasert W, Chattipakorn N. Effects of curcuminoids supplement on cardiac autonomic status in high-fat-induced obese rats. Nutrition 2009;22.

แหล่งทุนจากกองทุนสนับสนุนการวิจัย คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

12. Phrommintikul A, Sivasinprasasn S, **Lailerd N**, Chattipakorn S, Kuanprasert S, Chattipakorn N. Plasma urocortin in acute myocardial infarction patienta. Eur J Clin Invest 2010; 40(10):874-82

13. Thephinlap C, Phisalaphong C, **Lailerd N**, Chattipakorn N, Winichagoon P, Vadolus J, Fucharoen S, Porter JB, Srichairatanakool S. Reversal of cardiac iron loading and dysfunction in thalassemic mice by curcuminoids.Med Chem. 2011 Jan;7(1):62-9.

14. Chaiyasut C, Kusirisin W, Lailerd N, Lerttrakarnnon P, Suttajit M, Srichairatanakool S. Effects of phenolic compounds of fermented thai indigenous plants on oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats. Evid Based Complement Alternat Med. 2011;2011:749307. Epub 2011 Mar 8.

7.3. งานวิจัยที่กำลังทำ :

เรื่องที่ 1

(ภาษาไทย) : โครงการวิจัยสมุนไพรปัญจขันธ์เพื่อประยุกต์ใช้ในการรักษาผู้ป่วยโรคเบาหวานที่ควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดและLDL ไม่ได้ตามเป้าหมาย

(ภาษาอังกฤษ) : Gynostemma pentophylum in treatment of uncontrolled diabetic patients with high level of low-density lipoprotein (LDL)

แหล่งทุน: สถาบันแพทย์แผนไทย กระทรวงสาธารณสุข

สถานภาพในการทำวิจัยว่าได้ทำการวิจัยลุล่วงแล้วประมาณร้อยละ 95

เรื่องที่ 2

(ภาษาไทย) ศักยภาพของน้ามันปลาหนังน้าจืดในการเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร

(ภาษาอังกฤษ) Potential of fish oil from freshwater catfish as nutraceutical product

แหล่งทุน: สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

สถานภาพในการทำวิจัยว่าได้ทำการวิจัยลุล่วงแล้วประมาณร้อยละ 80

<u>ประวัติผู้ร่วมวิจัย</u> คนที่ 1

1. ชื่อ - นามสกุล (ภาษาไทย) : นางอัญชลี พงศ์ชัยเดชา
   ชื่อ - นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) : Mrs. Anchalee Pongchaidecha
2. เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน : 3 1020 01973 661
3. ตำแหน่งปัจจุบัน : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ระดับ 8
4. หน่วยงานที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้สะดวก พร้อมหมายเลขโทรศัพท์ โทรสาร และ e-mail

ภาควิชาสรีรวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
โทรศัพท์ 0-5394-5362-4
โทรสาร 0-5394-5365
e-mail : apongcha@mail.med.cmu.ac.th

5. ประวัติการศึกษา

1988	Ph.D. (Physiology), Gifu University, Japan
1984	Master of Science (Physiology), Chiang Mai University, Chiang Mai, Thailand
1981	Bachelor of Science (Nursing and Midwifery), Chiang Mai University, Chiang Mai, Thailand

6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชาการ

Nutrition, Physiology of Exercise

7. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ โดยระบุสถานภาพในการทำการวิจัยว่าเป็นผู้อำนวยการแผนงานวิจัย หัวหน้าโครงการวิจัย หรือผู้ร่วมวิจัยในแต่ละข้อเสนอการวิจัย

7.1 หัวหน้าโครงการวิจัย : ชื่อโครงการวิจัย

1.ระยะเวลาในการยับยั้งการทำงานของเอ็นซัยน์แอ็สซิทิลโคลิเนสเทอเรสในกระแสเลือด และสมองหนูจากสารสกัดของต้นพุดพิทยา และกลไกการทำงานของสารสกัดของต้นพุดพิทยาในการเพิ่มการทำงานของเซลล์สมอง

7.2 งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว : ชื่อผลงานวิจัย ปีที่พิมพ์ การเผยแพร่ และแหล่งทุน (อาจมากกว่า 1 เรื่อง)

1. Pornsinthusate A, **Pongchaidecha A**, Vilasdechanon N, Boonnayathap U. Effects of exercise on adrenergic receptor responses of the isolated atria in hypothyroid rats. *Thai J Physiol Sci* 1996;9(1):45. แหล่งทุนจากกองทุนสนับสนุนการวิจัย คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

2. Wongmekiat O, **Pongchaidecha A,** Saenphet S. Impacts of ethanol on the development of ventricular fibrillation in hypothermia. *Chiang Mai Med Bull* 2001;40(3):119-26. แหล่งทุนจากกองทุนสนับสนุนการวิจัย คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

3. Veeraphand O, **Pongchaidecha A,** Khansuwan U. Assessment for appropriate proportion of carbohydrate and fat on endurance exercise in rats. *Thai J. Physiol. Sci.* 2002;15(1):13-26. แหล่งทุนจากกองทุนสนับสนุนการวิจัย คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

4. **Pongchaidecha A**, Wongmekiat O, Apisariyakul A. Effect of *Coccinia grandis* on Glycemic Control in Streptozotocin-Diabetic Rats. *TJPEN* 2003;14(1):18-23. แหล่งทุนจากกองทุนสนับสนุนการวิจัย คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

5. **Pongchaidecha A**, Lailerd N, Boonprasert W, Chattipakorn N. Effects of curcuminoids supplement on cardiac status in high fat-induced obese rats. Europace Supplements 2007; 9(3) June: iii118.
แหล่งทุนจากกองทุนสนับสนุนการวิจัย คณะแพทยศาสตร์
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

7.3 งานวิจัยที่กำลังทำ :

ข้อเสนอการวิจัย เรื่องที่ 1

(ภาษาไทย) : ผลของ pinocembrin ต่อภาวะบาดเจ็บของกล้ามเนื้อหัวใจในการทดลอง ischemia-reperfusion ของหนู

(ภาษาอังกฤษ) : Effects of pinocembrin on myocardial ischemia-reperfusion injury model in rats

แหล่งทุน: สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

สถานภาพในการทำวิจัยว่าได้ทำการวิจัยลุล่วงแล้วประมาณร้อยละ 10

ข้อเสนอการวิจัย เรื่องที่ 2

(ภาษาไทย) : การทดสอบผลของ pinocembrin ต่อการตอบสนองของหลอดเลือดแดงของไตในภาวะเบาหวาน

(ภาษาอังกฤษ) : Effect of pinocembrin on renal artery rings in experimental diabetic rats

แหล่งทุน: ทุนพัฒนานักวิจัยรุ่นใหม่ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

สถานภาพในการทำวิจัยว่าได้ทำการวิจัยลุล่วงแล้วประมาณร้อยละ 50

ข้อเสนอการวิจัย เรื่องที่ 3

(ภาษาไทย) ศักยภาพของน้ำมันปลาหนังน้ำจืดในการเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร

(ภาษาอังกฤษ) Potential of fish oil from freshwater catfish as nutraceutical product

แหล่งทุน: สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

สถานภาพในการทำวิจัยว่าได้ทำการวิจัยลุล่วงแล้วประมาณร้อยละ 80

<u>ผู้ร่วมโครงการวิจัย</u> คนที่ 2

1. ชื่อ-นามสกุล (ภาษาไทย) นาง อนุสรณ์ ลังกาพินธ์
2. ชื่อ-นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Mrs Anusorn Lungkaphin
3. เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน : 3 3416 00718 401
4. ตำแหน่งปัจจุบัน: อาจารย์ระดับ 7
5. หน่วยงานที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้สะดวก พร้อมหมายเลขโทรศัพท์ โทรสาร และ e-mail

สถานที่ทำงาน ภาควิชาสรีรวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

จังหวัด	เชียงใหม่	รหัสไปรษณีย์	50200
โทรศัพท์	(053) 94-5362-4	โทรสาร	(053) 94-5365
โทรศัพท์มือถือ	04 180 9575	e-mail: onanusorn@yahoo.com	

6. ประวัติการศึกษา

2003	Ph.D. (Physiology), Mahidol University, Bangkok, Thailand
1997	Master of Science (Physiology), Chiang Mai University, Chiang Mai, Thailand
1990	Bachelor of Science (Nursing and Midwifery), with the First class honor, Mahidol University, Bangkok, Thailand

Special training

2002-2004	Visiting student at Department of Physiology, College of Medicine, University of Arizona , AZ , USA
2004-2005	Post-doctoral Fellow at National Institute of Environmental Health Sciences (NIEHS), National Institutes of Health (NIH), Department of Health and Human Services. North Carolina, USA

7. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชาการ
    1. Biochemistry
    2. Pharmacology
    3. Toxicology

8. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ โดยระบุสถานภาพในการทำการวิจัยว่าเป็นผู้อำนวยการแผนงานวิจัย หัวหน้าโครงการวิจัย หรือผู้ร่วมวิจัยในแต่ละข้อเสนอการวิจัย

8.1 ผู้อำนวยการแผนงานวิจัย : ชื่อแผนงานวิจัย -

8.2 หัวหน้าโครงการวิจัย : ชื่อโครงการวิจัย

(ภาษาไทย) : คุณสมบัติการทำงานและการปรากฏของโปรตีนขนส่งสารอินทรีย์ประจุลบ OAT ในท่อไต ในการศึกษาในโรคเบาหวาน

(ภาษาอังกฤษ) : Expression and function of renal organic anion transporters in experimental diabetes.

8.3 งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว : ชื่อผลงานวิจัย ปีที่พิมพ์ การเผยแพร่ และแหล่งทุน (อาจมากกว่า 1 เรื่อง)

1. **Lungkaphin,** A., Lewchalermwongse. B. and Chatsudthipong, V. (2006) Relative contribution of OAT1 and OAT3 transport activities in isolated perfused rabbit renal proximal tubules. Biochimica et Biophysica Acta 1758(6):789-95.

แหล่งทุน: This work was supported in part by National Center for Genetic Engineering and Biotechnology (BIOTEC) grant 3-2548, National Science and Technology Development Agency, Thailand.

2. **Lungkaphin, A.,** Chatsudthipong, V., Evans, K.K., Groves, C.E., Wright, S.H., Dantzler, W.H (2004) Interaction of the metal chelator, DMPS, with OAT1 and OAT3 in intact isolated rabbit renal proximal tubules. Am J Physiol Renal Physiol. 286:F68-F76.

แหล่งทุน: Ministry of University Affairs of Thailand for support. This work was supported in part by National Institutes of Health Grants DK-56224, ES-04940, and ES-06694.

3. Pornsinthusate A, **Pongchaidecha A**, Vilasdechanon N, Boonnayathap U. Effects of exercise on adrenergic receptor responses of the isolated atria in hypothyroid rats. *Thai J Physiol Sci* 1996;9(1):45.

แหล่งทุน: กองทุนสนับสนุนการวิจัย คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

8.4 งานวิจัยที่กำลังทำ : ชื่อข้อเสนอการวิจัย แหล่งทุน และสถานภาพในการทำวิจัยว่าได้ทำการวิจัยลุล่วงแล้วประมาณร้อยละเท่าใด

ชื่อข้อเสนอการวิจัย

(ภาษาไทย) : ผลของ pinocembrin ต่อภาวะบาดเจ็บของกล้ามเนื้อหัวใจในการทดลอง ischemia-reperfusion ของหนู

(ภาษาอังกฤษ) : Effects of pinocembrin on myocardial ischemia-reperfusion injury model in rats

แหล่งทุน: สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

สถานภาพในการทำวิจัยว่าได้ทำการวิจัยลุล่วงแล้วประมาณร้อยละ 10

ชื่อข้อเสนอการวิจัย

(ภาษาไทย) : การทดสอบผลของ pinocembrin ต่อการตอบสนองของหลอดเลือดแดงของไตในภาวะเบาหวาน

(ภาษาอังกฤษ) : Effect of pinocembrin on renal artery rings in experimental diabetic rats

แหล่งทุน: ทุนพัฒนานักวิจัยรุ่นใหม่ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

สถานภาพในการทำวิจัยว่าได้ทำการวิจัยลุล่วงแล้วประมาณร้อยละ 90

<u>ผู้ร่วมโครงการวิจัย</u> คนที่ 3

1. ชื่อ นามสกุล นางสาว ชุติมา ศรีมะเริง
Ms. Chutima Srimaroeng

2. เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน 3 3099 01606 34 1

3. ตำแหน่ง อาจารย์ประจำ (พนักงานมหาวิทยาลัย)

4. สถานที่ทำงาน ภาควิชาสรีรวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
โทรศัพท์ 0 5394 5362-4 # 115, โทรสาร 0 5394 5365
โทรศัพท์มือถือ 084-427-0187
e-mail: csrimar@med.cmu.ac.th

5. ประวัติการศึกษา B.Sc. (Physical Therapy), Khonkaen University, Thailand (1997)
Ph.D. (Physiology), Mahidol University, Thailand (2005)

<u>Special training</u>

2003-2004 Pre-doctoral Visiting Fellow award at Laboratory of Pharmacology and Chemistry, National Institute of Environmental Health Sciences (NIEHS), National Institute of Health (NIH), Research Triangle Park, North Carolina, USA

2005-2008 Post-doctoral Visiting Fellow award at Laboratory of Pharmacology, National Institute of Environmental Health Sciences (NIEHS), National Institute of Health (NIH), Research Triangle Park, North Carolina, USA

6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชาการ

5.1 Biochemistry

5.2 Pharmacology

5.1 Toxicology

7. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ โดยระบุสถานภาพในการทำการวิจัยว่าเป็นผู้อำนวยการแผนงานวิจัย หัวหน้าโครงการวิจัย หรือผู้ร่วมวิจัย ในแต่ละข้อเสนอการวิจัย

7.1 ผู้อำนวยการแผนงานวิจัย : ชื่อแผนงานวิจัย -

7.2 หัวหน้าโครงการวิจัย : ชื่อโครงการวิจัย

(ภาษาไทย): การศึกษาการควบคุมระดับการแสดงออกและการทำงานของโปรตีนขนส่งสารอินทรีย์ประจุลบ ในท่อไตส่วนต้นชนิดที่ 3 โดยผนังเซลล์ Lipid raft และโปรตีนบนผนังเซลล์ Lipid raft

(ภาษาอังกฤษ): Regulation of Renal Organic Anion Transporters 3 (Oat3) expression and function by Lipid raft domains and lipid raft-associated proteins

7.3 งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว: ชื่อผลงานวิจัย ปีที่พิมพ์ การเผยแพร่ และแหล่งทุน (อาจมากกว่า 1 เรื่อง)

Peer reviewed articles

1. Chutima Srimaroeng, Varanuj Chatsudthipong, Amy G. Aslamkhan and John B. Pritchard. Transport of the Natural Sweetener Stevioside and its aglycone Steviol by Human Organic Anion Transporter (hOAT1; SLC22A6) and hOAT3 (SLC22A8). *J Pharmacol Exp Ther.* 313: 621-628 (2005).

แหล่งทุน: The Thailand Research Fund through the Royal Golden Jubilee Ph.D. Program and Basic Research Grant for Royal Golden Jubilee grant holder

2. Chutima Srimaroeng, Promsuk Jutabha, John B. Pritchard, Hitoshi Endou and Varanuj Chatsudthipong. Interactions of Stevioside and Steviol with Renal Organic Anion Transporters in S2 cells and Mouse Renal Cortical Slices. *Pharm Res.* 22(6): 858-866 (2005).

แหล่งทุน: The Thailand Research Fund through the Royal Golden Jubilee Ph.D. Program and Basic Research Grant for Royal Golden Jubilee grant holder

3. Vanwert AL, **Srimaroeng C**, Sweet DH. Organic Anion Transporter 3 (Oat3/Slc22a8) Interacts with Carboxyfluoroquinolones and Deletion Increases Systemic Exposure to Ciprofloxacin. *Mol Pharmacol.* 74(1): 122-131 (2008).

แหล่งทุน: In part by the National Institutes of Health Intramural Research Program from the NIEHS

4. C. Srimaroeng, J.L. Perry, and J.B. Pritchard. Physiology, Structure, and Regulation of the Cloned Organic Anion Transporters. *Xenobiotica*. 38(7): 889-935 (2008).

แหล่งทุน: In part by the National Institutes of Health Intramural Research Program from the NIEHS

5. Barros, S.A.*, Srimaroeng, C.*, Perry J.L., Dembla-Rajpal, N,Walden, R., and Pritchard, J.B.:

   Activation of protein kinase C zeta increases OAT1 (SLC22A6) and OAT3 (SLC22A8) mediated

   transport. *J. Biol. Chem.* (Accepted: Epub ahead of print, Nov 21), 2008. (* equally contributed

   in this study)

แหล่งทุน: In part by the National Institutes of Health Intramural Research Program from the NIEHS

6. Paranee Meetam, **Chutima Srimaroeng**, Sunhapas Soodvilai and Varanuj Chatsudthipong. Regulatory role of Testosterone on Organic Cation Transport: In *Vivo* and in *Vitro* studies. *Biol. Pharm Bull.* 32(6): 982-7 (2009).
7. Paranee Meetam, **Chutima Srimaroeng**, Sunhapas Soodvilai and Varanuj Chatsudthipong. Role of Estrogen in Renal Handling of Organic Cation, Tetraethylammonium: in Vivo and in Vitro studies. *Biol. Pharm Bull*. 32(12): 1968-1972, 2009.

7.4 งานวิจัยที่กำลังทำ

1.(ภาษาไทย): การศึกษาการควบคุมระดับการแสดงออกและการทำงานของโปรตีนขนส่งสารอินทรีย์ประจุลบ ในท่อไตส่วนต้น ชนิดที่ 3 โดยผนังเซลล์ Lipid raft และ โปรตีนบนผนังเซลล์ Lipid raft

(ภาษาอังกฤษ): Regulation of Renal Organic Anion Transporters 3 (Oat3) expression and function by lipid raft domains and lipid raft-associated proteins

สถานภาพในการทำวิจัย อยู่ในระหว่างการทำวิจัย

2. Thompson, D.M., **Srimaroeng, C.**, Walden, R., Dallas, S., Miller, D.S., and Pritchard, J.B.: Functional characterization of human organic anion transporter 4 (hOAT; SLC22A11) in SF9 plasma membrane vesicles. *Amer. J. Physiol. Renal* 2009.

สถานภาพในการทำวิจัย: Manuscript preparation

3. Perry, J.L. **Srimaroeng, C.**, Hall, L.A., and Pritchard, J.B., Three dimensional structure of human organic anion transporter 3 (SLC22A8) and the role of aromatic and hydrophobic residues in defining the binding pocket for substrates and dicarboxylates. *Mol. Pharm.*, 2009.

สถานภาพในการทำวิจัย: Manuscript preparation

ผู้ร่วมโครงการวิจัย คนที่ 4

1.ชื่อ-นามสกุล (ภาษาไทย) นางดวงพร อมรเลิศพิศาล

(ภาษาอังกฤษ) Mrs. Doungporn Amornlerdpison

2.หมายเลขบัตรประจำตัวประชาชน 3 6599 000 57 529

3. ตำแหน่งปัจจุบัน อาจารย์ประจำคณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ
มหาวิทยาลัยแม่โจ้ 50290

โทรศัพท์ 0-5387-3470-2 ต่อ 213 โทรสาร 0-5387-3470-2 ต่อ 130

E-mail doung_fishtech@hotmail.com, doung_prim@yahoo.com

4. สาขาวิชาที่เชี่ยวชาญ การวิจัยและพัฒนาคุณค่าของผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ โดยเน้นการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพที่เกี่ยวกับเภสัชวิทยาและพิษวิทยา

5. ประวัติการศึกษา

พ.ศ. 2532	วิทยาศาสตรบัณฑิต (พยาบาลศาสตร์) มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
พ.ศ.2536	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เภสัชวิทยา) มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
พ.ศ.2551	วิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ) มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

6. รางวัลด้านวิชาการ

รางวัลดีเด่น การนำเสนอผลงานภาคบรรยาย เรื่อง ฤทธิ์ลดความดันโลหิตของสาหร่ายทะเลบางชนิด ในการประชุมวิชาการสาหร่ายและแพลงก์ตอนแห่งชาติครั้งที่ 3 เมื่อวันที่ 21-23 มีนาคม 2550 จัดโดยชมรมสาหร่ายและแพลงก์ตอนแห่งประเทศไทยร่วมกับภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ณ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

7. ผลงานวิจัยที่ตีพิมพ์ในวารสารนานาชาติ

1. **Kawpinit, D**., Rujjanawate, C., Kanjanapothi, D., Panthong, A., Taesotikul, T. 2000. *Gynostemma pentaphyllum* makino: a plant with therapeutic potentials. ACGC Chemical Research Communications 11: 60-61.
2. Rujjanawate, C., Kanjanapothi, D., **Amornlerdpison, D**. 2000. The gastroprotective effect of the aqueous extract of roselle. Thai J Phytophamacy 7(2): 1-6.
3. Rujjanawate, C., **Amornlerdpison, D**., Kanjanapothi, D. 2001. Gastroprotective effect of Thai propolis. Thai J Pharmacol 23(1): 9-15.
4. Rujjanawate, C., **Amornlerdpison, D**., Kanjanapothi, D. 2001. Gastroprotective effect of Thai roselle mucilage. Thai J Pharmacol 23(2-3): 95-100.
5. Kanjanapothi, D., Panthong, A., Lertprasertsuke, N., Taesotikul, T., Rujjanawate, C., **Kaewpinit, D.,** Sudthayakorn, R., Choochote, W., Chaithong, U., Jitpakdi, A., Pitasawat, B. 2004. Toxicity of crude rhizome extract of *Kaempferia galanga* L. (Proh Hom). J. Ethnopharmacology 90(2-3): 359-365.
6. Rujjanawate, C., Kanjanapothi, D., **Amornlerdpison, D**. 2004. The anti-gastric ulcer effect of *Gynostemma pentaphyllum* Makino. Phytomedicine 11(5): 431-435.
7. Rujjanawate, C., Kanjanapothi, D., **Amornlerdpison, D**. 2004. Analgesic effect of *Sapindus rarak* Pericarp. J. Trop. Med. Plants. 5(1): 11-14
8. Rujjanawate, C., Kanjanapothi, D., **Amornlerdpison, D** and S.Pojanagaroon. 2005. Anti-gastric ulcer effect of *Kaempferia parviflora*. J. Ethnopharmacology. 102: 120-122.
9. Rujjanawate, C., Kanjanapothi, D., **Amornlerdpison, D**. 2005. Antiulcerogenic activity of *Microspora floccosa*. J. Trop. Med. Plants. 6(2): 153-157.
10. Peerapornpisal, Y., **Amornlerdpison, D**. Rujjanawate, C., Ruangrit, K. and Kanjanapothi, D. 2006. Two endemic species of macroalgae in Nan river, Northern Thailand, as therapeutic agents. Science Asia 32 supplement 1: 71-76.

11. **Amornlerdpison D**, Peerapornpisal Y, Rujjanawate C, Taesotikul T, Nualchareon M, Kanjanapothi D (2007): Hypotensive Activity of Some Marine Algae. J Sci Res Chula (section T): 363-368.
12. **Amornlerdpison, D**., Peerapornpisal, Y., Rujjanawate, C., Taesotikul, T., Nualchareon, M., Kanjanapothi, D. (2007). Antioxidant activity of *Padina minor* Yamada. KMITL Science and Technology Journal 7 (S1):1-7.
13. **Amornlerdpison, D**., Peerapornpisal, Y., Taesotikul, T., Utan J., Nualchareon, M., Kanjanapothi, D. (2008). Antioxidant activity of *Sargassum polysystum* C.Agardh. J Fish Tech Res 2 (2):96-103.
14. **Amornlerdpison, D**., Peerapornpisal, Y., Taesotikul, T., Noiraksar T., Kanjanapothi, D. (2009). Gastroprotective activity of *Padina minor* Yamada. Chiang Mai J Sci 36 (1): 94-103.

หนังสือ

1. ไชยยง รุจจนเวท, ดวงตา กาญจนโพธิ์, **ดวงพร อมรเลิศพิศาล** บรรณาธิการ. 20 ปี สวนสมุนไพร สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี. บริษัท ปตท. จำกัด (มหาชน), 2549
2. Chaiyong Rujjanawate, Duangta Kanjanapothi, **Doungporn Amornlerdpison** Editors. 20th Aniversary HRH Princess Chakri Sirindhorn Herbs Garden. PTT Public Company Limited, 2006.

8. งานที่อยู่ระหว่างดำเนินการ

1. จัดทำ manuscript สำหรับการตีพิมพ์ในวารสารวิชาการระดับนานาชาติ จำนวน 2 ฉบับ
   1.1 Vasodilator and other cardiovascular effects of *Padina minor* Yamada
   1.2 A brown marine alga, *Padina minor* Yamada, a potential as nutraceutical and cosmeceutical
2. จัดทำ manuscript สำหรับการตีพิมพ์ในวารสารวิชาการระดับชาติ จำนวน 3 ฉบับ
   2.1 Biological activity of *Padina minor* Yamada
   2.2 ศักยภาพของสาหร่ายเตาในการเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง
   2.3 ฤทธิ์ปกป้องแผลกระเพาะอาหารของสาหร่ายเตา
3. งานวิจัยที่กำลังทำ

   (ภาษาไทย) ศักยภาพของน้ำมันปลาหนังน้ำจืดในการเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร

   (ภาษาอังกฤษ) Potential of fish oil from freshwater catfish as nutraceutical product

แหล่งทุน: สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

สถานภาพในการทำวิจัยว่าได้ทำการวิจัยลุล่วงแล้วประมาณร้อยละ 80

<u>ผู้ร่วมโครงการวิจัย</u> คนที่ 5

1. ชื่อ – นามสกุล นาง รวิวรรณ วงศ์ภูมิชัย (พัวธนาโชคชัย)

   ชื่อ - นามสกุล Mrs Rawiwan Wongpoomchai (Puatanachokchai)

2. เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน 3-5099-01338-44-1

3. ตำแหน่งปัจจุบัน ผู้ช่วยศาสตราจารย์

4. หน่วยงานและสถานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก

   ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ รหัสไปรษณีย์ 50200

   โทรศัพท์ 053-945325 ต่อ 225 โทรสาร 053-894031

   e-mail rpuatana@mail.med.cmu.ac.th

5. ประวัติการศึกษา

ปริญญาตรี สาขาวิชา พยาบาลศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ปีที่สำเร็จ 2533

ปริญญาโท สาขาวิชา ชีวเคมี มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ปีที่สำเร็จ 2537

ปริญญาเอก สาขาวิชา Medical Science, Graduate School of Medicine, Osaka City University ปีที่สำเร็จ 2549

6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ : ชีวเคมีการเกิดมะเร็ง

-การทดสอบฤทธิ์ก่อการกลาย(Mutagenicity) ฤทธิ์ก่อมะเร็ง (Carcinogenicity) ฤทธิ์ต้านการกลาย (Antimutagenicity) ฤทธิ์ต้านก่อมะเร็ง (Anticarcinogenicity) ของสารเคมีในสิ่งแวดล้อมและสารสกัดจากธรรมชาติ ในหลอดทดลองและสัตว์ทดลอง

-การศึกษากลไกการเกิดมะเร็งจากสารเคมีในสัตว์ทดลอง

-การศึกษากลไกการต้านมะเร็งของสารสกัดจากธรรมชาติ

7. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ

ผลงานวิจัย (เฉพาะที่ตีพิมพ์ในวารสารในประเทศและต่างประเทศ)

1. Kang JS, Wanibuchi H, Morimura K, <u>Wongpoomchai R</u>, Chusiri Y, Gonzalez FJ, and Fukushima S. Role of CYP2E1 in thioacetamide-induced mouse hepatotoxicity. Toxicol. Appl. Pharmacol. 2008 May 1; 228(3): 295-300

2. <u>Puatanachokchai R, Morimura K, Wanibuchi H, Oka M, Kinoshita A, Mitsuru F, Yamaguchi S, Funae Y, Fukushima S.</u> Alpha-benzene hexachloride exerts hormesis in preneoplastic lesion

formation of rat hepatocarcinogenesis with the possible role for hepatic detoxifying enzymes. Cancer Lett. 2006 Aug 18;240(1):102-13.

3. Puatanachokchai R, Kakuni M, Wanibuchi H, Kinoshita A, Kang JS, Salim EI, Morimura K, Tamano S, Merlino GT, Fukushima S. Lack of promoting effects of phenobarbital at low dose on diethylnitrosamine-induced hepatocarcinogenesis in TGF-alpha transgenic mice. Asian Pac J Cancer Prev. 2006 Apr-Jun; 7(2):274-8.
4. Wei M, Hori T, Ichihara T, Wanibuchi H, Morimura K, Kang JS, Puatanachokchai R, Fukushima S. Existence of no-observed effect levels for 2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-*f*]quinoxaline on hepatic preneoplastic lesion development in BN rats. Cancer Lett. 2006 Jan 18;231(2):304-8.
5. Mori S., Murai T., Wanibuchi H., Hagiwara A., Puatanachokchai R. and Fukushima S. Susceptibility of Four F_1 Hybrids of Male Rats to the Promoting Effects of Sodium L-ascorbate in Two-Stage Urinary Bladder Carcinogenesis Journal of Toxicologic Pathology, 2006; 19(2): 87-91.
6. Hagihara A., Wanibuchi, H., Puatanachokchai R., Kang J.S., Miyazi N., Seki S. and Fukushima S. Differences in Sensitivity of F344 Rats from Different Breeders to Phenobarbital Hepatocarcinogenicity Journal of Toxicologic Pathology. 2006; 19(1): 29-36.
7. Kushida M, Wanibuchi H, Morimura K, Kinoshita A, Kang JS, Puatanachokchai R, Wei M, Funae Y, Fukushima S. Dose-dependence of promotion of 2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline-induced rat hepatocarcinogenesis by ethanol: evidence for a threshold. Cancer Sci. 2005 Nov;96(11):747-57.
8. Fukushima S, Kinoshita A, Puatanachokchai R, Kushida M, Wanibuchi H, Morimura K.Hormesis and dose-response-mediated mechanisms in carcinogenesis: evidence for a threshold in carcinogenicity of non-genotoxic carcinogens. Carcinogenesis. 2005 Nov;26(11):1835-45.
9. Kang JS, Wanibuchi H, Morimura K, Puatanachokchai R, Salim EI, Hagihara A, Seki S, Fukushima S.Enhancement by estradiol 3-benzoate in thioacetamide-induced liver cirrhosis of rats.Toxicol Sci. 2005 May;85(1):720-6.
10. Denda A, Kitayama W, Puatanachokchai R, Tsutumi M, Konishi Y, Kuniyasu H, Baba M, Okuyama T, Nishino H. Effects of isoliquirithigenin on the development of preneoplastic liver lesions caused by a choline-deficient, L-amino acid-defined diet and on the urinary bladder

carcinogenesis by N-butyl-N-(4-hydroxylbutyl)nitrosamine in rats. J. Toxicol. Pathol. 2003; 16: 201-207.

11. Puatanachokchai R, Kishida H, Denda A, Murata N, Konishi Y, Vinitketkumnuen U, Nakae D. Inhibitory effects of lemon grass (*Cymbopogon citratus*, Stapf) extract on the early phase of hepatocarcinogenesis after initiation with diethylnitrosamine in male Fischer 344 rats. Cancer Lett. 2002 Sep 8;183(1):9-15.

12. อุษณีย์ วินิจเขตคำนวณ , รวิวรรณ พัวธนาโชคชัย, อรัญญา มโนสร้อย และจีรเดช มโนสร้อย. ฤทธิ์ก่อการกลายและฤทธิ์ต้านการกลายของสารสกัดสมุนไพร นมนาง สันโศกและหญ้าหวาน ในการทดสอบเอมส์ เชียงใหม่เวชสาร 2544; 40:147 - 53.

13. Puatanachokchai R, Sutthajit M. Microcystins. Toxicol. Bull. 1998; 8(3):10-12.

14. Puatanachokchai R, Kanasawud P, Phutrakul S. A comparative extracellular lipase activity of the cloned pUCP1 to thermophile isolate P1 . J.Sc.Fac.CMU. 1995; 23(1):21-25.

15. Vinitketkumnuen U, Puatanachokchai R, Kongtawelert P, Lertprasertsuke N, Matsushima T. Antimutagenicity of lemon grass (*Cymbopogon citratus* Stapf) to various known mutagens in salmonella mutation assay. Mutat Res. 1994 Nov;341(1):71-5.

งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว

1. หัวหน้าโครงการวิจัย เรื่อง ผลของสารประกอบเชิงซ้อนโอลิโกเมอริค โปรแอนโทรซัยยานิดินจากสารสกัดเปลือกหุ้มเมล็ดมะขามต่อการเกิดมะเร็งตับในระยะเริ่มต้นและกลไกที่เกี่ยวข้องกับระบบป้องกันอนุมูลอิสระ

แหล่งทุน ทุนพัฒนาศักยภาพในการทำงานของอาจารย์รุ่นใหม่ จากกองทุนสนับสนุนการวิจัย (ก.ค. 2549-มิ.ย. 2551)

การเผยแพร่ผลงานวิจัย

Wongpoomchai R., Charoensin S., Petra R., Wanibuchi H., Fukushima S., and Suttajit M. Chemopreventive effects of Tamarind (*Tamarindus indica* L) husk extract on theearly stages of rat hepatocarcinogenesis. Oral presention in 1st Asian Conference on Environmental Mutagens. Kitakyushu, Japan. November 29- November 30, 2007.

2.หัวหน้าโครงการวิจัย เรื่อง การสร้างโมเดลที่เหมาะสมกับการทดสอบฤทธิ์ก่อมะเร็งตับแบบระยะกลางในหนูทดลองสำหรับใช้งานในประเทศไทย

แหล่งทุน ทุนพัฒนานักวิจัยรุ่นใหม่ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ประจำปี 2549 (มี.ค. 2550-ก.พ. 2551)

การเผยแพร่ผลงานวิจัย

Wongpoomchai R., Thongtharb A., Champanin N., Akarakijwiroon S., Lertparsertsuke N., Wanibuchi H., and Fukushima S. Development and application of rat liver medium-term bioassay (Ito test) for detecting carcinogenicity and anticarcinogenicity of synthetic compounds and natural products in Thailand. Poster presentation. The 9th National Cancer Conference. December 12-14, 2007, Bangkok, Thailand

งานวิจัยที่กำลังทำ

1.หัวหน้าโครงการวิจัย เรื่อง ผลของสารพิโนสโตรบินที่สกัดได้จากกระชายต่อการเกิดไมโครนิวเคลียสในตับหนูที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยไดเอทธิลไนโตรซามีน

แหล่งทุน ทุนวิจัยคณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (ต.ค. 2550-ก.ย. 2551)

สถานภาพในการทำวิจัย กำลังเขียนรายงานฉบับสมบูรณ์

การเผยแพร่ผลงานวิจัย

Chareonsin S., Pompimon W., Mevatee U., and Wongpoomchai R. Toxicological and mutagenic evaluation of pinostrobin isolated from fingerroot (*Boesenbergia pandurata*) in wistar rat. Poster presentation. The 9th National Cancer Conference. December 12-14, 2007, Bangkok, Thailand

2. หัวหน้าโครงการวิจัย เรื่อง ผลของสารพิโนเซมบรินที่สกัดจากเหง้ากระชายต่อการเกิดมะเร็งตับในระยะก่อตัวและระยะส่งเสริมในหนูที่ได้รับสารก่อมะเร็งไดเอทธิลไนโตรซามีน

แหล่งทุน สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ทุนงบประมาณแผ่นดิน ปีงบประมาณ 2552 (ต.ค. 2551-ก.ย. 2552)

สถานภาพในการทำวิจัย เริ่มโครงการเดือนตุลาคม 2551

ผู้ร่วมโครงการวิจัย คนที่ 5

1. ชื่อ นายเกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน

Mr. Kriangsak Meng-Ampham

2. เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน 3 9499 00051 33 1

3. ตำแหน่งปัจจุบัน รองศาสตราจารย์ ระดับ 9

4. หน่วยงานที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้สะดวก

คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้

ตำบลหนองหาร อำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่ 50290

โทรศัพท์ (053)873470-2 ต่อ 202 โทรสาร (053) 873470-2 ต่อ 130

E-mail: kriangsakm@mju.ac.th, kriang12@yahoo.com

5. ประวัติการศึกษา

ปี พ.ศ.	ระดับ	สาขา	สถาบัน	ประเทศ
2546	เอก	เทคโนโลยีชีวภาพ	ม.เชียงใหม่	ไทย
2531	โท	Aquaculture	Central Luzon State University	ฟิลิปปินส์
2526	ตรี	วาริชศาสตร์	ม.สงขลานครินทร์	ไทย

6. สาขาวิชาที่มีความชำนาญพิเศษ

การเพาะเลี้ยงและปรับปรุงพันธุ์ปลา และ การผสมเทียมปลาโดยการใช้ฮอร์โมน การอนุบาล การเลี้ยงปลาระบบต่าง ๆ การเก็บน้ำเชื้อแช่แข็งปลา ผลของการใช้ฮอร์โมนต่อระดับฮอร์โมนเพศและการพัฒนาอวัยวะสืบพันธุ์ปลา และการศึกษาโครโมโซมปลาบึกจากแหล่งน้ำ

7. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัย

7.1 ผู้อำนวยการแผนงานวิจัย

ชื่อแผนงานวิจัย : ระบบการพัฒนาเชิงพาณิชย์ที่ยั่งยืนสำหรับการเพาะเลี้ยงปลาบึก

7.2 หัวหน้าโครงการวิจัย

ชื่อโครงการวิจัย : ระบบการเลี้ยงแบบรวมสำหรับการเลี้ยงกุ้งก้ามกรามในบ่อดิน

: การคัดเลือกพ่อแม่พันธุ์เพื่อผลิตปลานิลเพศผู้โดยการใช้ฮอร์โมน Methtestosterone และกวาวเครือแดง (Pueraria mirifica)

7.3 ผลงานวิจัยและสิ่งตีพิมพ์

บทความและหนังสือ

เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน. 2535. การเลี้ยงปลาน้ำจืด. ฝ่ายฝึกอบรม สำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการเกษตร, สถาบันเทคโนโลยีการเกษตรแม่โจ้. 91 หน้า.

เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน. 2535. เอกสารประกอบการฝึกอบรม หลักการเลี้ยงปลา. 25 หน้า.

เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน. 2537. หลักการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ. ภาควิชาเทคโนโลยีการประมง, คณะผลิตกรรมการเกษตร, มหาวิทยาลัยแม่โจ้.

เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน. 2544. การคัดเลือกพันธุ์สัตว์น้ำที่สำคัญ. ภาควิชาเทคโนโลยีการประมง, คณะผลิตกรรมการเกษตร, มหาวิทยาลัยแม่โจ้. หน้า 1-14.

เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน. 2544. รายงานผลการวิจัย การผลิตและปรับปรุงพันธุ์ปลาจากน้ำเชื้อแช่แข็ง. ภาควิชาเทคโนโลยีการประมง, คณะผลิตกรรมการเกษตร, มหาวิทยาลัยแม่โจ้. 82หน้า.

เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน. 2546. สัมมนาปฏิรูปอุดมศึกษาทางรอดของชาติ ได้อะไรบ้าง แล้วจะเตรียมตัวอย่างไร. สารสภาคณาจารย์ ปีที่ 14 ฉบับที่ 2 : 32-33.

เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน. 2547. การเพาะขยายและปรับปรุงพันธุ์ปลา. ภาควิชาเทคโนโลยีการประมง, คณะผลิตกรรมการเกษตร, มหาวิทยาลัยแม่โจ้. 169 หน้า.

เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน. 2548. ปลาบึกเพื่อการใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืน. ภาควิชาเทคโนโลยีการประมง คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้. 151 หน้า.

เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน. บทความพิเศษสรุป 1 ปี ในสภามหาวิทยาลัยที่คณาจารย์ควรพิจารณาเพื่อทราบ. สารสภาคณาจารย์มหาวิทยาลัยแม่โจ้. ปีที่ 16 ฉบับที่ 1/2548 มกราคม - มีนาคม 2548.

เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน. แม่โจ้อนุรักษ์ปลาบึก. หนังสือพิมพ์ไทยนิวส์ ฉบับวันเสาร์ที่ 16 เมษายน 2548. หน้า 11.

เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน. 2549. คุณสมบัติที่สำคัญสำหรับผู้บริหารที่ดี. รวมบทความและกิจกรรม ของผู้เข้ารับการฝึกอบรมโครงการพัฒนาขีดความสามารถของผู้บริหาร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ รุ่นที่ 1. หน้า 124-126.

เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน. 2549. คู่มือการฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการ การเพาะเลี้ยงปลาบึก. 28 หน้า.

เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน. 2549. คู่มือฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการ การเก็บน้ำเชื้อแช่แข็งปลาบึกเพื่อการผสมเทียม. 33 หน้า.

เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน. 2549. หลักการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ. คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้. 243 หน้า.

เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน. 2551. คู่มือฐานการเรียนรู้ปลาบึก. 27 หน้า.

เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน. 2552. การเพาะเลี้ยงปลาบึกแบบมืออาชีพระดับประเทศ. รายงานผลการทำกิจกรรมส่งเสริมละสนับสนุนการวิจัย.สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ. 200 หน้า.

Kriangsak Mengamphan. 2003. Country Papers of Thailand. Aquaculture Management. 230-228 p.

ตีพิมพ์ในวารสาร

เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน. 2539. อุตสาหกรรมประมงในเวียดนาม. วารสารแม่โจ้ปริทัศน์ ปีที่ 5 ฉบับที่ 2 หน้า 23 – 25.

เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน. 2540. คุณภาพของอสุจิและอัตราการผสมของไข่ปลาไนยุโรปโดยน้ำเชื้อแช่แข็ง. วารสารการประมง. ปีที่ 50 ฉบับที่ 1: 47-54.

เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน. 2540. วิธีเลี้ยงปลาดุกเทศในนาข้าว ความหวังใหม่ของชาวนา, วารสารวิจัยและส่งเสริมวิชาการเกษตร. ปีที่ 8, ฉบับที่ 1 : 57-62.

เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน และ จงกล พรมยะ. 2540. การเลี้ยงปลานิลเพศผู้อัตราการปล่อยต่างกันในนาข้าว. วารสารการประมง. ปีที่ 49 ฉบับที่ 2 : 418 - 423.

เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน. 2541. การวิจัยและปลาบึก เพื่อการใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืน. วารสารนานาสัตว์น้ำ. สำนักงานผู้รายงานชุดโครงการอุตสาหกรรมสัตว์น้ำ. ปีที่ 2 No.4 : 12-13.

เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน. 2541. การศึกษาผลของ Growth Hormone (GH) ต่อการเจริญเติบโตของปลาบึกในคอก. วารสารการประมง. ปีที่ 52 ฉบับที่ 2.

เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน. 2542. ปลาบึก. วารสารแม่โจ้ปริทัศน์ ปีที่ 1 ฉบับที่ 2 เดือนสิงหาคม – กันยายน 2542. หน้า 88-92.

เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน. 2542. ปลาบึกเพื่อการใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืน. วารสารแม่โจ้ปริทัศน์. ปีที่ 1 ฉบับที่ 2 : 88-92.

เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน. 2544. ทำไมต้องมีการวิจัยปลาบึกเพื่อการอนุรักษ์. วารสารแม่โจ้ปริทัศน์ ปีที่ 2 ฉบับที่ 1. หน้า 45-46.

เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน, เทพรัตน์ อึ้งเศรษฐพันธ์, ทิพย์สุคนธ์ พิมพ์พิมล อานุภาพ วรรณคนาพล และ เขม ชาติ จิวประเสริฐ. 2544. การศึกษาข้อมูลเบื้องต้นด้านการพัฒนาอวัยวะสืบพันธุ์ระดับฮอร์โมนเพศและอายุของปลาบึกในแหล่งน้ำธรรมชาติ. วารสารการประมง. ปีที่ 54 ฉบับที่ 3 : 249-256.

เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน. 2545. อุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำไต้หวัน. วารสารแม่โจ้ปริทัศน์ ปีที่ 3 ฉบับที่ 2. หน้า 35-37.

เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน. 2546. การศึกษาลักษณะโครโมโซมสัตว์ (ปลาบึก) โดยไม่จำเป็นต้องฆ่าปลา. วารสารแม่โจ้ปริทัศน์ ปีที่ 4(2) : 73-76.

เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน. 2546. ธนาคารน้ำเชื้อแช่แข็งปลาบึกเพื่อการอนุรักษ์และปรับปรุงพันธุ์. วารสารแม่โจ้ปริทัศน์ ปีที่ 4 ฉบับที่ 1 หน้า 63-66.

เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน จงกล พรมยะ จีรเดช มโนสร้อย และอรัญญา มโนสร้อย. 2547. การกระตุ้นการเจริญพันธุ์ปลาสวายโดยใช้ฮอร์โมนเข้มข้นต่างกันแขวนลอยในน้ำมันถั่วเหลือง. วารสารการประมง. ปีที่ 57 ฉบับที่ 3 เดือน พฤษภาคม - มิถุนายน 2547.

เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน จีรเดช มโนสร้อย และอรัญญา มโนสร้อย. 2547. การศึกษาเบื้องต้นลักษณะโครโมโซมจากเซลล์เม็ดเลือดขาวของปลาบึก. วารสารการประมง. ปีที่ 57 ฉบับที่ 4 เดือน กรกฎาคม - สิงหาคม 2547.

เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน ชนกันต์ จิตมนัส และ Amarit Bart. 2549.ปัจจัยพื้นฐานบางประการในการเก็บน้ำเชื้อปลาบึกแช่แข็งเพื่อการนำไปใช้ประโยชน์.วารสารการประมง.ปีที่ 59 ฉบับที่ 3 เดือนพฤษภาคม - มิถุนายน :259-262.

เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน และ คณะ. 2549. องค์ความรู้และความร่วมมือสำหรับปลาบึกในอนาคตอันใกล้. วารสารแม่โจ้ปริทัศน์. ปีที่ 7 ฉบับที่ 1. หน้า 21-26.

เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน อานุภาพ วรรณคนาพล Rogelio Carandang และ ยุทธนา สมิตะสิริ.2549 ระดับความเข้มข้นของฮอร์โมน 17 Methtltestosterone ต่อการแปลงเพศปลานิลสามสายพันธุ์. การประชุมวิชาการประมง ประจำปี 2549 กรมประมงร่วมกับ ศูนย์พัฒนาการประมงแห่งเอเชียตะวันออกเฉียงใต้. หน้า 306 - 315.

เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน และ อานุภาพ วรรณคนาพล. 2549. การเลี้ยงกุ้งก้ามกรามร่วมกับปลาบึกและปลานิลในบ่อดิน. วารสารการประมง. ปีที่ 59. ฉบับที่ 2 เดือนมีนาคม - เมษายน 2549 : 143 - 151.

เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน และ จารุวัลย์ แสงกระจ่าง. 2550. การเจริญเติบโต ฮอร์โมนเพศ ปริมาณเม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาวของปลาบึกอายุ 4 ปี รุ่นที่ 1 เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดผสมสาหร่าย สไปรูลินา. วารสารการประมง. ปีที่ 60 ฉบับที่ 6 พฤศจิกายน - ธันวาคม. หน้า 510 - 514.

เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน และ จารุวัลย์ แสงกระจ่าง. การเจริญเติบโต ฮอร์โมนเพศ ปริมาณเม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาวของปลาบึกอายุ 4 ปี รุ่นที่ 1 เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดผสมสาหร่ายสไปรูลินา. การประชุมวิชาการประมง ครั้งที่ 2 “เพื่อความมั่นคงด้านการประมงและทรัพยากรทางน้ำ วันที่ 6-7 ธันวาคม 2550”. หน้า 58.

เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน และ พงศกร หน่อคำ. 2550. การผลิตสาหร่าย Spirulina platensis ต้นทุนต่ำจากน้ำหมักมูลสัตว์. วารสารการประมง. ปีที่ 8 ฉบับที่ 4 ประจำเดือน กรกฎาคม - สิงหาคม. หน้า 51 - 54.

เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน และคณะ. 2550. ปลาสวยแม่โจ้ 75 ลูกผสม (พ่อปลาเผาะ x แม่ปลาสวาย) เพื่อสัตว์น้ำเศรษฐกิจตัวใหม่. วารสารแม่โจ้ปริทัศน์. ปีที่ 8 ฉบับที่ 6 ประจำเดือน พฤศจิกายน - ธันวาคม 2550. หน้า 20 - 22.

เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน. 2550. ปลาสวยแม่โจ้ 75. วารสารแม่โจ้ปริทัศน์. ปีที่ 8 ฉบับที่ 6 ประจำเดือน พฤศจิกายน – ธันวาคม 2550. หน้า 20-22.

เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน. 2551. การอนุบาลปลาสวยแม่โจ้ลูกผสมด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปเสริมยีสต์ที่ระดับต่างกัน. วารสารแม่โจ้ปริทัศน์. ปีที่ 9 ฉบับที่ 2 ประจำเดือน มีนาคม – เมษายน 2551. หน้า 38-42.

เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน. 2551. เส้นทางสู่ความสำเร็จปลาบึกแม่โจ้ 75 รายแรกของโลก. วารแม่โจ้ปริทัศน์. ปีที่ 9 ฉบับที่ 1 ประจำเดือนมกราคม - กุมภาพันธ์ 2551. หน้า 9-11.

อัจฉรา ไสลภูมิ ผ่องพรรณ กันติยะ และเกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน. 2552. ต้องเตรียมความพร้อมอย่างไรก่อนสำเร็จการศึกษาเพื่อไปทำงาน. ปี่ที่ 10 ฉบับที่ 5: หน้า 75-80.

บัญญัติ มนเทียรอาสน์ เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน และ บัญชา ทองมี. 2551. ไต้หวันไปไกลกว่าที่คิดแล้วไทยเราล่ะ. วารสารแม่โจ้ปริทัศน์. ปีที่ 9 ฉบับที่ 4 ประจำเดือน กรกฎาคม – สิงหาคม 2551. หน้า 20-27.

Meng-umpha K. and R.G. Arec. 1987. Performance of selected Nile Tilapia – Facon 1 (Oreochromie niloticcn) in a Rice-Fish Culture System Applied with Different Levels of Inorgaric and Commercial Feitilizers. In the Second International Sympumum on Tilapia in Aquaculture, 16-20 March. Department at Fisheries, Thailand and International Center for living Aquatic Resoues Management. 150.

Meng-umpan K, J. Jintasataporn and J. Sollows. 1990. Rice-Fish Culture Demontratian in Surin Province, Thailand. Aquabyet, Vol. 3, No. 1:2-3.

Manosroi A, Meng-umphan K and Manosroi J. 2003. An Annual Development of Gonads, Sex Hormone Profile and Age Determination of The Mekong Giant Catfish (Pangadsinodon gigas, Chevy) in Ponds. Aquaculture Research. 34, 1,379-1,385.

Manosroi J, Meng-umpan K, Manosroi A. 2004. Matrurtion Induction of Pangasius hypophthalmus Using Gonadotropin Releasing Hormone Analogue (GnRHa) in Combination with Domperidone, in Oil Suspension Dosage Form. Asian Fisheries Science 17(2004):39-49.

Meng-umphan K, Manosroi J and Manosroi A. 2004. Effect of Select Hormones in Oil Suspension on the Gonadal Development of the Mekong Giant Catfish (Pangasianodon gigas, Chevey). Thai Journal of Agricultural Science 2004, 37(2): 137-145.

Meng-umphan K, Manosroi J and Manosroi A. 2006. Successful Artificial Breeding of the Mekong Giant Catfish (Pangadsinodon gigas, Chevy) Reared in Earthen Ponds by Boostering with Gonadotropin Releasing Hormone Analogue (GnRHa). Asian Fisheries Science 19(2006): 149-155.

Meng-umphan K, Srinuansom K, and Whangchai. N. 2006. Effects of dietary raw Spirulina on growth, Blood parameters and sex hormone level of Pla Pho (*Pangasius bocourti*) from North and Northeast strains. Fisheries and Aquatic Resources for Security and Stability. Page 73.

Meng-umphan K, Samitasiri Y and Carandang JR. 2006. The Potential of Red Kwao (*Butea superba*) in Inducing Sex Reversal on Three Strains (Red, Ghana, Chitralada) of Nile

Tilapia (*Oreochremis niloticus L.*) and the Effect of 17-α-Methytestosterone (MT). Asian Fisheries Science 19(2006):271-279.

Fahprathanchai P, Saenphet K, Meng-umphan K, Peerapornpisal Y, Saenphet S, Aritajat S, Sudwan P. 2006. Histopathological and hematological evaluation of nile tilapia *(Orecohromis niloticus)* exposed to to toxic cyanobacteria (*Microcystis aeruginosa*). Southeast Asian J Trop Med Public Health. Vol 38 (suppl 1) 2007: 245-248.

Meng-umphan K.and Saengkrachang J. 2007. The first success on the production of Generation 2 (F2,The Blabuk Maejo 75) Mekong Giant Catfish (*Pangasinodon gigas*) Cultured with *Spirulina sp.* Additive Pellet Feeds. Maejo International Journal of Science and Technology.

Whangchai N., Ungsethaphand T., Chitmanat C., Mengumphan K., Uraiwan S. Performance of Giant Freshwater Prawn (Macrobrachium rosenbergii de Man) Reared in Earthen Ponds Beneath Plastic Film Shelters. Chiang Mai J. Sci. 2007; 34(1) : 1-8.

Meng-umphan K and Saengkrachang J. 2008. Production of Generation-2 Mekong giant catfish (***Pangasinodon gigas***) cultured with *Spirulina* sp. Maejo International Journal Science and Technology 2008, Volume 2 (Issue 3 (August –December 2008)). P. 559-567.

Urairuangsri, S., Saenphet, K., Meng-umphan, K. and Saenphet, S. ผลของรังสีอุลตราไวโอเลตบีต่อตัวอ่อนปลานิล. การประชุมวิชาการประมง ครั้งที่ 2 “เพื่อความมั่นคงด้านการประมงและทรัพยากรทางน้ำ วันที่ 6-7 ธันวาคม 2550”. หน้า 76.

Meng-umphan K and Carandang R, Jr. 2009. The effect of Red Kwao Kreua (*Butea superba*) and 17 17-α-Methytestosterone (MT) on Some Growth Parameters and Inducing Sex Reversal on Ghana Strain Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus* L) Raised in Hapas. In Cage Aquaculture in Asia: Proceedings of The Second International Symposium on Cage Aquaculture in Asia (ed. Y.Yi, X.Z.. Wu and Y.Q. Zhou), pp 191-196. Asia Fisheries Society, Manila, Phillipines and Zhejiang University, Hangzhou, China.

7.4 งานวิจัยที่กำลังทำ

ชื่อเรื่อง	สถานภาพ
การเจริญเติบโตและพันธุกรรมปลาหนังลูกผสมสายพันธุ์ใหม่เพื่อเพิ่มมูลค่าและสนับสนุนการส่งออก	หัวหน้าโครงการ